

Aus der Klinik für Anästhesie, Intensiv-, Notfall- und Schmerzmedizin
(Direktor Univ.- Prof. Dr. med. Klaus Hahnenkamp)
der Universitätsmedizin der Universität Greifswald

**Zeitverzögerung bei der Bearbeitung von Blutkulturen von Sepsispatienten
– Analyse und Möglichkeiten der Verbesserung der Präanalytik**

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des akademischen

Grades

Doktor der Medizin

(Dr. med.)

der

Universitätsmedizin

der

Universität Greifswald

2022

vorgelegt von:

Julika Pamina Schwarzenbacher

geb. am: 20.09.1990

in: Berlin

Dekan: Prof. Dr. med. Karlhans Endlich

1. Gutachter: PD Dr. Matthias Gründling

2. Gutachter: Prof. Dr. Onnen Mörer

Ort, Raum: Greifswald, Universitätsmedizin Seminarraum Anästhesie

Tag der Disputation: 19.06.2023

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	6
1.1	Definition der Sepsis	6
1.2	Pathophysiologie der Sepsis	7
1.3	Diagnostik der Sepsis	8
1.4	Therapie der Sepsis.....	9
2	Zielsetzung	11
3	Material und Methoden	12
3.1	Studiendesign	12
3.2	Ein- und Ausschlusskriterien.....	12
3.3	Datenerhebung.....	14
3.4	Präanalytik.....	14
3.5	Analytik.....	15
3.6	Ergebnismitteilung	15
3.7	Einrichten der Untersuchungsgegebenheiten	15
3.8	Statistische Analysen.....	16
4	Eigene Arbeiten	16
4.1	Posterpublikation „Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock“ – DIVI Hamburg 2014 [59].....	16
4.2	Posterpublikation und Abstract „Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly“ – Weimar Sepsis Update 2015 [58].....	17
4.3	Wissenschaftlicher Artikel „On-site blood culture incubation shortens the time to knowledge of positivity and microbiological results in septic patients“ – Schwarzenbacher, Kuhn, Vollmer, Scheer, Fuchs, Rehberg, Balau, Hahnenkamp, Bohnert, Gründling [57]	18
5	Zusätzliche Ergebnisse des Datenkollektivs	20
5.1	Patientengut	20
5.2	Abnahmezeit und Zeit bis zur Blutkulturbebrütung – Time to blood culture incubation (TTI)	20
5.3	Zeit bis zur Erregerdetektion – Time to blood culture positivity (TTP)	21
5.4	Zeit bis zum Wissen um Positivität – Time to knowledge of positivity (TTK)	21
5.5	Zeit bis zum mikrobiologischen Endbefund – Time to microbiological result (TTR).....	22

5.6	Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse.....	22
5.6.1	Positivität.....	22
5.6.2	Kontamination.....	22
5.6.3	Gramanalyse.....	22
6	Diskussion.....	23
6.1	Blutkulturen als zentraler Punkt der Diagnostik.....	23
6.2	Blutkulturtransport und Time to Incubation (TTI).....	24
6.3	Time to Positivity (TTP).....	24
6.4	Time to Knowledge (TTK).....	25
6.5	Time to Result (TTR).....	26
6.6	Erregerspektrum.....	27
6.7	Blutkulturkontamination.....	27
6.8	Positivitätsrate und falsch positive Befunde der Blutkulturinkubation.....	29
6.9	Methodenkritik.....	30
6.10	Änderung der Definition.....	31
7	Zusammenfassung.....	32
8	Verzeichnisse.....	33
8.1	Literaturverzeichnis.....	33
8.2	Abbildungsverzeichnis.....	40
8.3	Tabellenverzeichnis.....	40
8.4	Abkürzungsverzeichnis.....	41
9	Anlagen.....	42
9.1	Posterpublikation „Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock“ – DIVI Hamburg 2014.....	43
9.2	Posterpublikation und Abstract „Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly“ – Weimar Sepsis Update 2015.....	44
9.3	Wissenschaftlicher Artikel „On-site blood culture incubation shortens the time to knowledge of positivity and microbiological results in septic patients“ – Schwarzenbacher J., Kuhn S.-O., Vollmer M., Scheer C., Fuchs C., Rehberg S., Balau V., Hahnenkamp K., Bohnert J., Gründling M.....	46
10	Danksagung.....	59

An jeglichen Stellen dieser Arbeit umfasst die Bezeichnung von Berufsgruppen und Personen alle entsprechenden Personen unabhängig von ihrem Geschlecht. Aufgrund der Übersichtlichkeit und Lesbarkeit wird jedoch nur eine Form angegeben.

1 Einleitung

Sepsis ist eine schwerwiegende systemische Erkrankung, die zu den drei häufigsten Todesursachen in Deutschland gehört. Ursache dafür sind zum einen die hohe Letalität der schweren Sepsis und des septischen Schocks, zum anderen die steigende Inzidenz [23, 28, 65]. Allgemein bekannt ist eine Prognoseverbesserung bei zeitiger und adäquater Therapie. Eine zeitnahe und auch schnelle Diagnostik muss folglich angestrebt werden, um diesen Vorteil zu ermöglichen [16, 20, 38]. Für ein verbreitetes Krankheitsbewusstsein und -verständnis wurde unter anderem durch die Einführung eines World Sepsis Day jährlich am 13. September und mehr noch durch die Einführung von Therapiestrategien versucht, die Bevölkerung und insbesondere die Ärzteschaft für diese Erkrankung zu sensibilisieren [10, 41].

1.1 Definition der Sepsis

Die genaue Definition der Sepsis hat sich im zeitlichen Verlauf mehrfach verändert. Aktuell definiert eine Sepsis eine lebensbedrohliche, dysregulierte Antwort des Immunsystems auf eine Infektion [8]. Zur Diagnosestellung muss diese Infektion mikrobiologisch oder klinisch gesichert oder vermutet sein [7]. Zum Zeitpunkt der Datenerhebung (2009-2015) galt die Sepsis-2 Definition, wonach die Diagnose einer Sepsis sich auf Symptome eines SIRS (allgemeines Entzündungssyndrom, systemic inflammatory response syndrome) stützte. Bis zur Einführung der neuen Definition konnte eine Sepsis bei einer vermuteten oder nachgewiesenen Infektion und dem Vorliegen von mindestens zwei der vier SIRS Kriterien (siehe Tabelle 1) diagnostiziert werden. Wenn zusätzlich noch mindestens eine Organdysfunktion auftrat, wurde von einer schweren Sepsis gesprochen. Ein septischer Schock wurde gekennzeichnet durch eine arterielle Hypotonie bei ausgeglichenem Volumenhaushalt oder den Bedarf von Vasopressoren, um diese Hypotonie zu verhindern, sowie eine fehlende andere Ursache für einen Schockzustand des Erkrankten [8, 16]. Von der alten Sepsisdefinition wurde Abstand genommen, da Studien zeigten, dass sowohl Patienten ohne Sepsis die SIRS Kriterien hinreichend erfüllen, als auch Sepsispatienten die SIRS Kriterien zum Teil nicht erfüllen [11, 33]. Im Folgenden wird bei den Begriffen Sepsis, schwere Sepsis oder septischer Schock die von Dellinger et al. publizierte Sepsis-2 Definition zugrunde gelegt [16]. Eine Sepsis umfasst nur in etwa einem Drittel der Fälle eine Bakteriämie [26].

Tab. 1: Definitionskriterien SIRS, Organdysfunktion, Schock im Rahmen der Sepsis-2 Definition

SIRS	Organdysfunktion ohne andere Ursache und trotz ausreichender Substitution	Schocksymptome trotz Volumengabe und ohne andere Ursache
Hypothermie ($\leq 36^\circ\text{C}$) oder Fieber ($\geq 38^\circ\text{C}$)	Akute Enzephalopathie	Verminderter mittlerer arterieller Druck $\leq 65\text{ mmHg}$
Herzfrequenz $> 90 / \text{min}$	Thrombozytopenie (relativ mit Abfall $> 30\%$ in 24 h oder absolut bei Thrombozytenzahl $\leq 100.000 / \text{mm}^3$)	Vasopressorbedarf für mittleren arteriellen Druck $\geq 65\text{ mmHg}$ oder systolischen Druck $\leq 90\text{ mmHg}$
Atemfrequenz $> 20 / \text{min}$ oder $\text{PaCO}_2 > 32\text{ mmHg}$	Akute arterielle Hypoxämie mit $\text{PaO}_2 \leq 75\text{ mmHg}$ (bei Raumluft) oder $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 \leq 250\text{ mmHg}$ (trotz O_2 -Gabe)	
Leukozyten $< 4000 / \text{mm}^3$ oder $> 12000 / \text{mm}^3$ bzw. $> 10\%$ unreife neutrophile Leukozyten	Verminderte Diurese ($\leq 0,5\text{ ml/kg KG/h}$) für mind. 2 h bzw. Serumkreatininanstieg über 200% des lokalen Referenzwertes	
	Metabolische Azidose mit einem Base Excess $\leq -5\text{ mmol/l}$ oder Laktaterhöhung über 150% des lokalen Referenzwertes	

1.2 Pathophysiologie der Sepsis

Eine Sepsis ist eine systemische Krankheit, die primär ausgelöst wird durch eine Infektion, sich im Verlauf jedoch durch ein dynamisches Zusammenspiel der pro- und der antiinflammatorischen Immunantwort des Erkrankten mit unterschiedlicher und wechselnder Dominanz der Komponenten unterhält. Der primär eingedrungene Mikroorganismus kann sowohl ein Pilz, als auch ein Bakterium sein. Prädisponierende Faktoren des Patienten wie Alter, Geschlecht, immunmodulierende Grund- und Vorerkrankungen beeinflussen zusätzlich den Verlauf. Grundlegend für die Entstehung einer Sepsis ist weiterhin, dass es dem betroffenen Organismus nicht gelingt die Infektion und die resultierende Immunreaktion lokal zu

begrenzen. Viele unterschiedliche Faktoren und Rezeptoren und auch Zellen haben Anteil an der komplexen Immunantwort des menschlichen Organismus. Zur primären Immunreaktion gehören unter anderem Zellen des angeborenen Immunsystems mit speziellen Pattern Recognition Rezeptoren (PRR, wie zum Beispiel Toll like Rezeptoren) zur Detektion von endogenen (wie mitochondriale und weitere Zellkernproteine) und exogenen (wie etwa Liganden mikrobieller Herkunft – Lipopolysaccharide – oder körperfremde Nukleinsäuren) Molekülmustern und resultierender Zellaktivierung. Im Krankheitsverlauf kommt es zu einer Aktivierung und Vermehrung von neutrophilen Granulozyten, die mittels Phagozytose und antimikrobieller Enzyme und Moleküle eingedrungene Mikroorganismen vernichten können. Eine Schädigung des umgebenden Gewebes bleibt dabei jedoch nicht aus. Auch antigen-präsentierende Zellen wie Makrophagen spielen eine wichtige Rolle in der Immunantwort des Körpers, so aktivierte T-Zellen können unterschiedliche pro- und antiinflammatorische Zytokine als Reaktion auf die präsentierten Antigene ausschütten. Dieses insgesamt sehr komplexe Zusammenspiel kann die humane Hämodynamik bis hin zu einer septischen Kardiomyopathie (vollständig reversible Veränderung der Herzleistung mit verminderter Kontraktilität bei erhöhter Herzfrequenz) verändern. Es kann die Endothelfunktion dahingehend stören, dass die Arteriolen dilatieren und die interzelluläre Integrität herabgesetzt wird und damit die Durchlässigkeit des Kapillarendothels ansteigt, welches in einen relevanten Flüssigkeitsverlust münden kann. Zudem kann durch eine aktivierte Gerinnung und eine verminderte Verformbarkeit der Erythrozyten im Rahmen der vorbeschriebenen Kaskaden der Blutfluss in den Kapillaren bis zum Stillstand gebracht werden. Folglich werden Zellen unzureichend mit Sauerstoff versorgt und Mikrothromben entstehen. Als Folge kann es zu einem Multiorganversagen kommen [3, 63].

1.3 Diagnostik der Sepsis

Die Ursachen einer Sepsis sind mikrobiologisch vielseitig und erfordern unterschiedliche Therapieregime, weshalb dem behandelnden Kliniker bekannt sein muss, welche Infektionserreger zu therapieren sind [27]. Den Goldstandard der mikrobiologischen Diagnostik bilden trotz ihres Zeitaufwandes Blutkulturen, in denen nach einer Bebrütungsperiode ein Erregerwachstum nachgewiesen werden kann. Dazu sollten vor antiinfektiver Therapie mindestens zwei Blutkulturpaare, bestehend aus einer aeroben und einer anaeroben Blutkulturflasche mit peripher abgenommenem Blut (je 10 ml) beimpft werden [53]. Da nicht jede Sepsis mit einer nachweisbaren Bakteriämie einhergeht (siehe 2.1), sind nicht alle

Sepsen durch eine Blutkultur genauer zu bestimmen. Die Wahrscheinlichkeit einer Kulturpositivität erhöht sich mit der Anzahl der abgenommenen Sets, dem genauen Füllvolumen der einzelnen Flaschen und der Abnahme vor dem Beginn einer antiinfektiven Therapie, um das Wachstum der Mikroorganismen nicht durch wirksame Medikamente im Blut zu unterdrücken [19]. In der aktuellen Leitlinie der Surviving Sepsis Campaign (SSC) von 2021 wurde der Sepsisdiagnostikpfad nicht genau herausgearbeitet, jedoch findet die Empfehlung zur Sepsisdiagnostik mittels Blutkulturen in einem Schema (Hour-1 Bundle) zur initialen Sepsisdiagnostik und Therapie Beachtung [62]. Die Leitlinie 2021 empfiehlt lediglich die Entnahme von mikrobiologischen Proben inklusive Blut zur weiteren Diagnostik. Durch die Abnahme der Blutkulturen oder anderer mikrobiologischer Proben darf es zu keinem merkbaren Therapieverzögerung kommen, orientierend wird in der Leitlinie eine Verzögerung von < 45 min als annehmbar angegeben. Empfohlen ist zudem auch eine Probengewinnung von den vermeintlichen Infektionsorten. Zusätzlich zur mikrobiologischen Diagnostik muss die klinische Diagnose vorangetrieben werden. Klinische Sepsis Diagnosekriterien wie Temperaturveränderung und Hinweise auf Organdysfunktionen finden sich ausführlich in Tabelle 1. Individuelle Patientenparameter müssen ebenfalls in Betracht gezogen werden, speziell bei unklarem Infektfokus sind gemäß alter und neuer Leitlinie unterschiedliche bildgebende Verfahren wie Ultraschall, Computertomographie oder Magnetresonanztomographie einzusetzen [8, 16, 22].

1.4 Therapie der Sepsis

Für einen größtmöglichen Therapieerfolg sollte eine antiinfektive Therapie so bald als möglich, laut SSC innerhalb der ersten Stunde nach Erkennen eines septischen Schocks oder bei einer wahrscheinlichen Sepsis, beginnen. Ist eine Sepsis ohne Schockzustand nur eine mögliche und keine wahrscheinliche Diagnose sollte die Differentialdiagnostik weiter forciert werden, der Erkrankte engmaschig beobachtet werden und eine antiinfektive Therapie bei einer nicht ausschließbaren Sepsis innerhalb von 3 Stunden initiiert werden. Sollte jedoch eine andere Diagnose für die Symptome sich bestätigen oder sehr wahrscheinlich sein, so sollte die empirische antiinfektive Therapie beendet werden (SSC 2021), [25]. Es ist notwendig, betroffene Patienten mit antibiotischen bzw. bei entsprechendem Verdacht auch antimykotischen Medikamenten zu behandeln (empirische Therapie). Diese empirische Therapie basiert auf lokalen Resistenzmustern, dem Ort der Infektionsentstehung, den Komorbiditäten des Patienten und dem vermuteten oder nachgewiesenen Infektionsherd. Als

ein therapeutischer Leitfaden kann die Tarragona Strategie angesehen werden, die all diese Überlegungen umfasst und damit eine Richtung für die adäquate antiinfektive Therapie vorgibt [21]. Eine Behandlung mit unpassenden Antiinfektiva oder eine Verzögerung des Behandlungsbeginns führt dabei zu einer erhöhten Mortalität der Erkrankten [21, 38, 45]. Die SSC empfiehlt zudem eine Bundle Strategie als qualitätsoptimierte Sepsistherapie (siehe Abbildung 1). Neben der antimikrobiellen Therapie verlangt die internationale Leitlinie nach der Therapie der Sepsissymptome wie Stabilisierung der hämodynamischen Situation und Verbesserung der Ventilation, welche aber nicht Thema dieser Arbeit sein sollen [22].

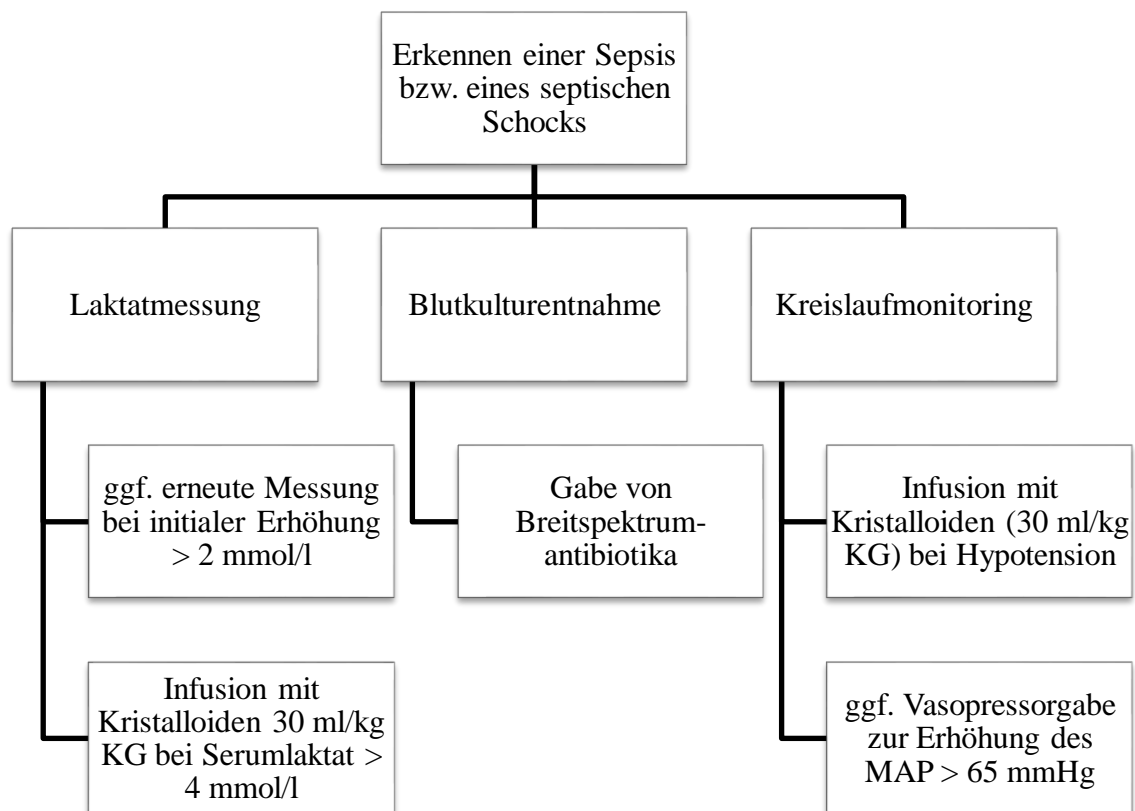


Abb. 1: Hour-1 Bundle als Strategieleitfaden zur optimierten Sepsistherapie bei Patienten mit Sepsis oder im septischen Schock adaptiert von sscm.org [62]

Eine Revision der empirischen Therapie muss anschließend auf Grundlage der klinischen Veränderung des Patienten und des mikrobiologischen Befundes mit Angaben zu den nachgewiesenen Mikroorganismen und deren Resistenzen erfolgen. Auch eine unmittelbare Sanierung des Infektionsherdes, sofern durchführbar, gehört zur notwendigen Behandlung. Das umfasst je nach Infektfokus Wundlavage, Operation oder Entfernung von Implantaten und Kathetern. Zusätzlich muss ein intensives Monitoring der betroffenen Patienten erfolgen, um Organversagen und Komplikationen frühzeitig zu erkennen und sobald als möglich eine Deeskalation der antiinfektiven Therapie zum Schutz der Erkrankten vorzunehmen. Eine lange

Therapie mit Breitspektrumantibiotika und unwirksamen Antiinfektiva führt nicht nur zu unnötig höheren Kosten, sie verursacht auch mehr Nebenwirkungen und ist, wie bereits seit langem bekannt, assoziiert mit einem schlechteren Outcome [24, 37, 50]. Zudem zeigte sich, dass durch einen vermehrten Einsatz von Breitspektrumantibiotika und auch generell Antibiotika außerhalb eines stationären Krankenhausaufenthalts ein erhöhter Selektionsdruck auf die Mikroorganismen entsteht und damit der relative Anteil an Infektionen mit multiresistenten Organismen zunimmt [36, 44, 47].

2 Zielsetzung

Cardoso et al. konnten bereits 2010 zeigen, dass eine zeitige Blutkulturentnahme mit einer reduzierten 28-Tage-Sterblichkeit bei schwerer Sepsis assoziiert ist. Diese sollte gemäß aktueller Leitlinie bereits innerhalb der ersten Stunde nach dem Zeitpunkt der Diagnosestellung erfolgen [8, 10]. Jedoch ist eine zeitnahe Blutkulturentnahme ohne eine Bebrütung und anschließende mikrobiologische Aufarbeitung der positiven Blutkulturen wertlos. Gerade in Europa ist eine flächendeckende unmittelbare Blutkulturbebrütung nicht gegeben. Auf dieses Defizit stießen Idelevich et al. 2019, von Laboren aus 25 europäischen Ländern berichteten lediglich 42 %, dass sie über eine automatisierte vierundzwanzigstündige Bebrütungsmöglichkeit für Blutkulturen verfügen, knapp 10 % der befragten Labore hätten keinen Service zur Beladung der Bebrütungseinheiten an Sonn- oder Feiertagen [31]. Zudem lässt sich in einigen medizinischen Zentren zur Sepsisbehandlung, vornehmlich in Europa, ein enormer Zeitverzug in der Präanalytik durch weite Transportwege der beimpfften, aber noch nicht bebrüteten Blutkulturen bis zum mikrobiologischen Labor finden [56]. Die Zeitverkürzung in der mikrobiologischen Analytik der positiven Blutkulturen ist in den letzten Jahren stark vorangeschritten. Durch die Einführung einer massenspektrometrischen Erregererkennung oder einer genetischen Erregeranalyse mittels der Polymerase-Kettenreaktion konnten die Methoden zur Erregerbeurteilung drastisch in ihrem Zeitaufwand minimiert werden [12, 18].

Es ist also auch die Blutkulturbebrütung und -diagnostik nach der Entnahme entscheidend, um die Zeit bis zu einer validierbaren und kalkulierten antiinfektiven Therapie zu minimieren und die empirische Therapie frühzeitig zum Schutz des Patienten de- oder bei Bedarf auch eskalieren zu können – vergleiche 2.4. [24] Daher muss versucht werden die Zeit, die durch ein

peripheres mikrobiologisches Labor ohne 24-stündige Öffnungszeit verloren geht, zu reduzieren.

Das Ziel der hier vorliegenden Studie ist es die Effizienz einer Blutkulturbebrütung vor Ort zu analysieren. Hierzu sollen im Verlauf folgende Fragen beantwortet werden:

Sind die Zeiteinsparungen gegenüber Blutkulturen mit Transport vor Inkubation relevant, wenn die am Entnahmeort bebrüteten, positiven Blutkulturen den gleichen Transportweg zur weiteren Analytik haben?

Verändert eine sofortige Bebrütung das Keimspektrum der Sepsispatienten?

3 Material und Methoden

3.1 Studiendesign

Die Studie wurde an Patienten der anästhesiologisch geführten Intensivstation durchgeführt, denen Blutkulturen zur Erregerdiagnostik entnommen wurden. Das mikrobiologische Labor des Klinikums ist örtlich ausgegliedert und je nach Verkehrslage schwierig mit dem Auto zu erreichen (Entfernung ca. 4 km). Zum Zeitpunkt der Studie war es an Wochentagen von 7 bis 18 Uhr besetzt, an Wochenenden und Feiertagen verkürzt bis zur Mittagszeit. Blutkulturtransporte fanden zu vereinbarten Uhrzeiten statt, wochentags stündlich zwischen 7 Uhr und 16 Uhr, samstags um 8 Uhr, 10 Uhr und 11 Uhr und sonntags um 8 Uhr und 10 Uhr. Für unsere Vergleichsgruppe (Labor-Gruppe) akquirierten wir die Daten im Sinne einer retrospektiven Beobachtungsstudie. Die Daten der Untersuchungsgruppe (ITS-Gruppe) wurden wie für eine prospektive Interventionsstudie erfasst. Einen Überblick über das Studiendesign und die Abläufe gibt die Abbildung 2.

3.2 Ein- und Ausschlusskriterien

In eine initiale Datenerfassung wurden 942 Patienten (01.2010 – 12.2012: 421 Labor-Gruppe; 09.2013 – 03.2015: 521 ITS-Gruppe) der anästhesiologisch geführten, operativen Intensivstation (ITS) des Universitätsklinikums Greifswald eingeschlossen. In die Labor-Gruppe wurden nur Blutkultursets eingeschlossen, die von Erkrankten mit schwerer Sepsis oder

septischem Schock entnommen wurden. Für den Vergleichszeitraum, die ITS-Gruppe, wurden auch die Daten der Blutkulturen von nicht septischen Patienten der ITS erfasst und ausgewertet. Eingeschlossen wurden in diese Gruppe alle Blutkulturen von volljährigen Patienten, die auf der ITS behandelt worden sind. Blutkulturen, denen kein eindeutiges Entnahmedatum zugeordnet werden konnte, wurden ausgeschlossen. Des Weiteren wurden Blutkulturen ausgeschlossen, die nicht im IT-System des mikrobiologischen Instituts zu finden waren (2 Sets).

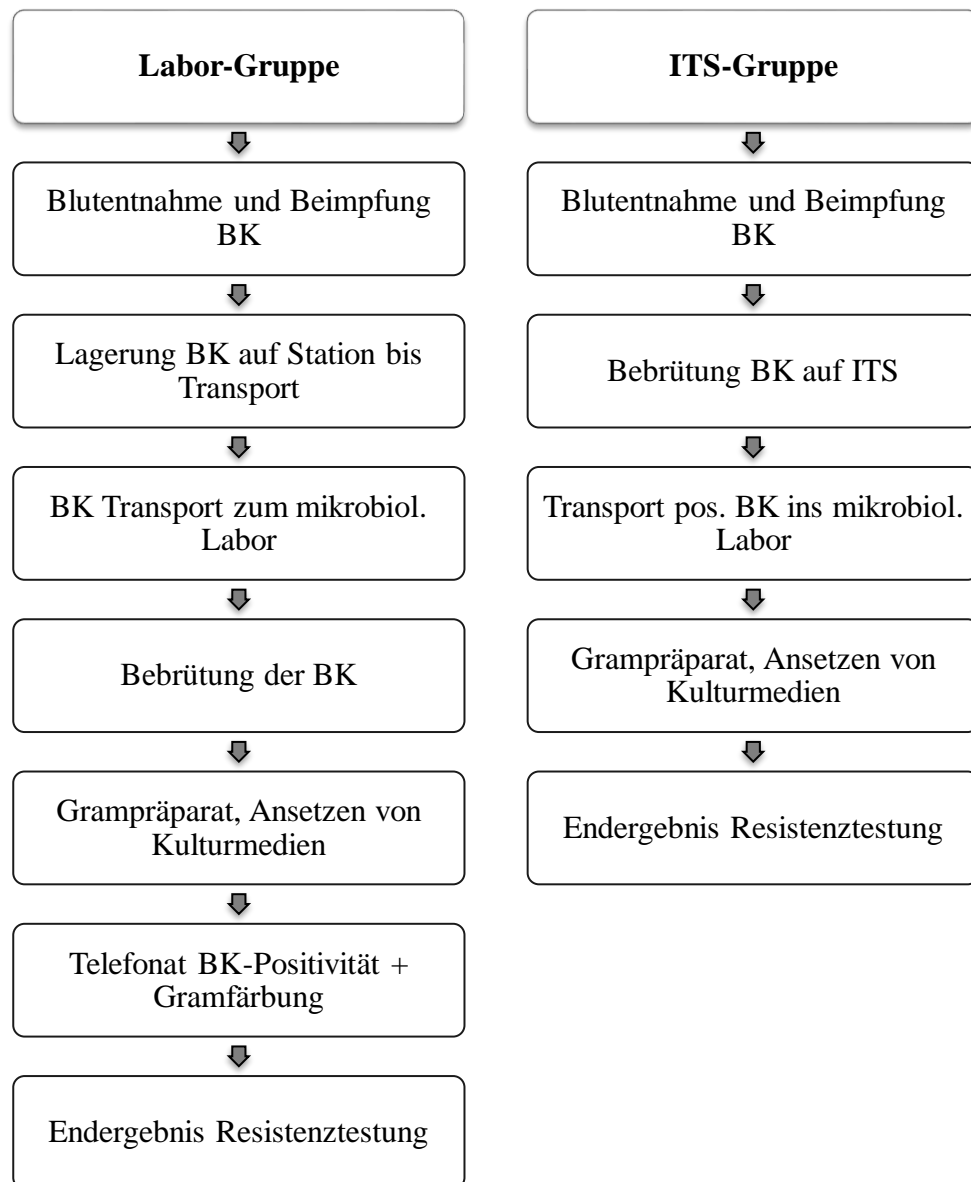


Abb. 2: Schematische Darstellung der Abläufe der Blutkulturdiagnostik im Vergleich. Die linke Spalte stellt die Abläufe der Vergleichsgruppe dar und die rechte Spalte die Abläufe der Untersuchungsgruppe. Die Beimpfung der Blutkulturen (BK) erfolgt in der Regel im Patientenzimmer auf der Intensivstation (ITS).

3.3 Datenerhebung

Für die Vergleichsgruppe vor einer Veränderung der Abläufe hinsichtlich der Blutkulturdiagnostik erfolgte die Erhebung der Daten retrospektiv. Diese Daten fungieren als Vergleichsdaten der alten Situation (Blutkulturbebrütung in einem peripheren Labor) zu den jüngeren Daten, die von der ITS-Bebrütungsgruppe prospektiv erhoben worden sind.

Es wurden die digitalisierten mikrobiologischen Befunde der Blutkulturuntersuchungen und die elektronischen Patientenakten einbezogen. Die Befunde erhalten Informationen über Blutkulturpaare – eine aerobe und eine anaerobe Blutkultur. Der mikrobiologische Befund ist das Ergebnis der Analyse des kompletten Paares. Durch die automatische elektronische Dokumentation und Sicherung (SwissLab) konnten die Zeitpunkte der Entnahme, des Blutkultureingangs im Labor (gleichzusetzen mit dem Bebrütungsbeginn im BD BACTEC™ FX Bebrütungssystem), des Wachstumssignals der Blutkulturflasche, der ersten telefonischen Befundmitteilung an die behandelnden Ärzte mit Informationen über Gramverhalten und Bakterienform und der Zeitpunkt des abschließenden Befundes erfasst werden.

3.4 Präanalytik

Die Blutabnahme und die Beimpfung der Blutkulturflaschen erfolgt zum größten Teil durch die medizinischen Pflegekräfte der Intensivstation. In der Labor-Gruppe sind die auf der Station abgenommenen Sets mittels eines, wie bereits beschrieben, regelmäßigen Autotransports in das ca. 4 km entfernte mikrobiologische Labor geschickt worden. Dort erfolgte sowohl die Bebrütung als auch die weitere Analyse der Blutkulturflaschen, die ein Erregerwachstum aufwiesen. Bis zum nächsten Transport sind die beimpften Blutkulturflaschen auf Station bei Raumtemperatur gelagert worden.

Blutkulturpaare der ITS-Gruppe sind im Gegensatz dazu direkt auf der ITS im BACTEC™ FX Bebrütungssystem bebrütet worden. Ein Kulturwachstum wurde durch ein akustisches Signal angezeigt und die so detektierten Blutkulturflaschen wurden per Autotransport in das mikrobiologische Labor zur weiteren Analyse geschickt. Der Transport erfolgte mit der gleichen Regelmäßigkeit wie zuvor auch der Transport der nicht bebrüteten Blutkulturflaschen, immer möglichst zur nächsten vereinbarten Transportzeit. Bei einer Wachstumsdetektion außerhalb der Laboröffnungszeiten erfolgte der Transport zum nächstmöglichen Zeitpunkt am nächsten Tag. Kulturen ohne detektiertes Wachstum wurden vor Ort verworfen.

3.5 Analytik

Im mikrobiologischen Institut erfolgte die Bebrütung der Blutkulturen der Labor-Gruppe sofort nach deren Eintreffen im BACTEC™ FX Bebrütungssystem. Durch einen Fluoreszenzmarker werden die beimpften Blutkulturflaschen nahezu kontinuierlich auf ein lineares mikrobielles Wachstum beziehungsweise eine Änderung der Fluoreszenzintensität überprüft (4). Bei einem Wachstumssignal wurde die Flasche aus dem System entnommen und zur weiteren Analyse auf Blut-, Kochblut-, MacConkey- und Schaedler-Agar (selektiv für anaerobe Mikroorganismen) ausgetropft. Des Weiteren wurde ein Grampräparat angelegt. Nach Befundung des Grampräparates durch das ärztliche Personal wurde in der Regel das Team der behandelnden Intensivmediziner telefonisch über das Ergebnis informiert, dadurch konnten die Bakterienform, das Gramverhalten und eventuell auch eine Therapieempfehlung frühzeitig übermittelt werden. Diese Informationsübergabe sollte regelhaft erfolgen, wenn bisher kein Wachstum von dem entsprechenden Mikroorganismus nachgewiesen werden konnte. Anhand des Grampräparates erfolgte eine orientierende Resistenzbestimmung.

Am Folgetag der Resistenzbestimmung konnte die Kultur abgelesen, die Resistenzbestimmung mittels minimaler Hemmkonzentration (VITEK®) ausgewertet werden und die Identifizierung mittels Massenspektrometrie (MALDI-TOF) erfolgen. Diese Analyseschritte unterschieden sich nicht von denen der ITS-Gruppe.

3.6 Ergebnismitteilung

Zwischen- und Endbefunde der mikrobiologischen Diagnostik wurden elektronisch übermittelt.

3.7 Einrichten der Untersuchungsgegebenheiten

Im September 2013 erfolgte die Installation des BACTEC™ FX Bebrütungssystems auf der ITS. Sämtliche Mitarbeiter der ITS (Pflegepersonal und ärztliches Personal) wurden in die Handhabung eingewiesen. Neues oder rotierendes Personal wurde umgehend von dem angelernten Mitarbeiterstamm in die korrekte Benutzung eingeführt.

In dem mikrobiologischen Institut entstand ein Epicenter für alle Bebrütungsautomaten (die zwei Bebrütungsautomaten des mikrobiologischen Institutes für alle Blutkulturen des

Klinikums und das Bebrütungssystem der ITS). So war es möglich von peripher einen Überblick über alle abgenommenen Kulturen zu behalten und bei eventuellen Abweichungen vom Protokoll, wie z.B. vergessenen positiven Blutkulturen im Bebrütungssystem, die Mitarbeiter der Station darüber zu informieren.

3.8 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen und die Diagramme wurden mit Excel 2010, MatLab und R (R Foundation for Statistical Computing, R version 3.4.4) erstellt. Die Auswertungen und Vergleiche der Daten wurde mit dem Wilcoxon-Mann-Whitney-Test [Rangsummentest] für unabhängige Stichproben durchgeführt. Zur Signifikanztestung von Häufigkeitsverteilung wurde der χ^2 -Test angewendet. Als statistisch signifikant wurde eine Irrtumswahrscheinlichkeit $\leq 5\%$ gewertet. Die 95 % Konfidenzintervalle (CI) der Proportionalangaben wurden mittels modifizierter Methode nach Wald berechnet und angegeben.

4 Eigene Arbeiten

4.1 Posterpublikation „Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen Schock“ – DIVI Hamburg 2014 [59]

Um zu Beginn eine Übersicht über die Abläufe der Blutkulturdiagnostik zu bekommen, untersuchten wir den Ist-Status der zeitlichen Abläufe für Blutkultursets eines Patientenkollektivs (n = 421) der Intensivstation mit schwerer Sepsis (n = 95) oder septischem Schock (n = 326). Über einen Zeitraum von 3 Jahren (2010-2012) wurden die Zeiten für die Blutkulturentnahme, den Probeneingang im Labor, den Zeitpunkt der Blutkulturpositivität, der telefonischen Befundmitteilung an den Behandler und der Zeitpunkt des mikrobiologischen Endbefundes erfasst. Als Ausgangssituation fanden wir eine mediane Transportzeit (Blutkulturentnahme bis Bebrütungsbeginn) aller untersuchten Blutkulturen von 7,85 Stunden, vgl. Abbildung 3 durchschnittliche Transportzeit zum Labor. Eine signifikante Verlängerung dieser Transportzeit (auf 11,85 Stunden im Median) zeigte sich, wenn Blutkultursets außerhalb der oben beschriebenen Transport- und Laboröffnungszeiten beimpft wurden. Sobald die Blutkulturen im Labor eintrafen, wurden sie im Median 16,67 Stunden bis zu einem Wachstumssignal bebrütet. In diesem ursprünglich vorgefundenen Setting entfielen während

der regulären Öffnungszeiten des mikrobiologischen Labors 7,5 % der Zeit von Blutkulturentnahme bis zum mikrobiologischen Endbefund nur auf den Transport der bereits abgenommenen Blutkulturen. Dieser Anteil steigerte sich bei einer Blutkulturentnahme außerhalb regulärer Öffnungszeiten auf 11,4 %. Des Weiteren stellten wir fest, dass eine telefonische Befundmitteilung über das Ergebnis des Grampräparats in einem Fünftel der entsprechenden Fälle ausblieb und dass etwas über die Hälfte (54 %) der getätigten Anrufe keine Änderung des Therapieregimes nach sich zog, wenngleich retrospektiv 22 % der empirisch gewählten antiinfektiven Therapie wirkungslos war [59].

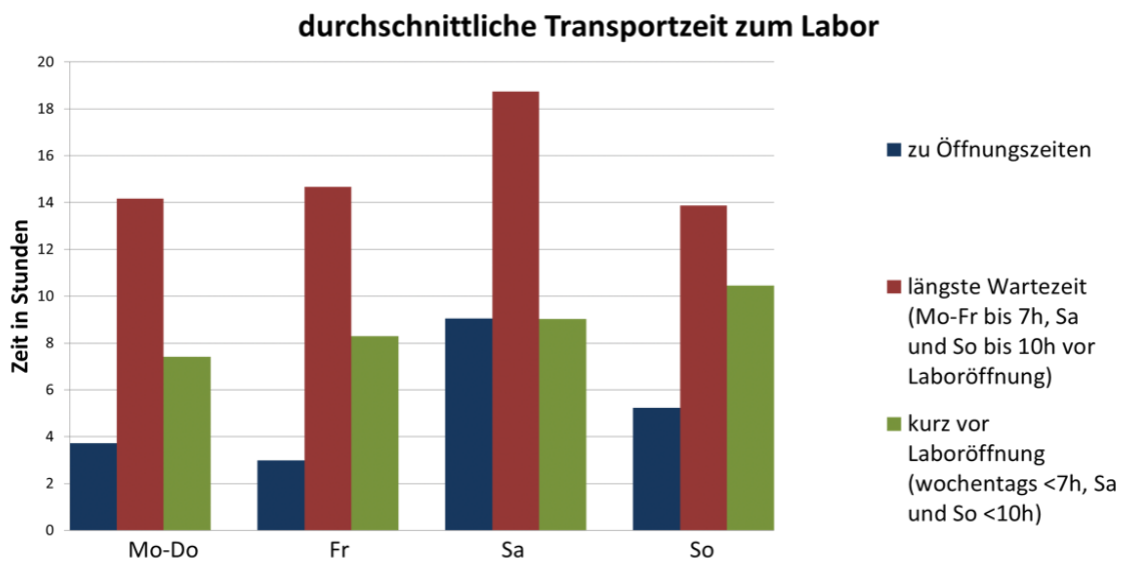


Abb. 3: Die durchschnittliche Transportzeit für Blutkulturen der ITS zum Labor im Zeitraum 2010-2012, aus Posterpublikation für DIVI 2014 in Hamburg [59]

4.2 Posterpublikation und Abstract „Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly“ – Weimar Sepsis Update 2015 [58]

In einer ersten retrospektiven Vergleichsanalyse des Datenpools untersuchten wir den Zeitvorteil einer unmittelbaren Blutkulturbebrütung auf der ITS im Gegensatz zu einer gesammelten Blutkulturbebrütung in dem zugehörigen, aber entfernt gelegenen mikrobiologischen Institut der Universitätsmedizin Greifswald. Dazu verglichen wir die Daten von 2873 vor Ort bebrüteten Blutkultursets von 521 ITS-Patienten mit 2910 extern bebrüteten Sets von 421 Patienten mit schwerer Sepsis oder im septischen Schock (gemäß der zum Untersuchungszeitpunkt gültigen Sepsis-2 Definition). Laut den vorliegenden Daten führt eine vor Ort Bebrütung der Blutkulturen zu einem Zeitvorteil bis zum Wissen um Positivität von 2,7 Stunden, $p = 0,029$. Die Zeit bis zum ersten Resistogramm der angezüchteten Mikroorganismen verkürzt sich bei einer vor Ort Bebrütung um 22,2 Stunden. Es fiel eine Reduktion der Zeit bis

zum mikrobiologischen Endbefund (TTR) im zeitlichen Verlauf in der Beobachtungsgruppe auf, die sich retrospektiv mit der Einführung des MALDI-TOF System zur Mikroorganismusanalyse erklären lässt. Ein Vergleich der Zeiten der Beobachtungsgruppe von 2012 mit denen der vor Ort Bebrütung zeigt weiterhin einen signifikanten Zeitvorteil einer Blutkulturbebrütung vor Ort [58].

4.3 Wissenschaftlicher Artikel „On-site blood culture incubation shortens the time to knowledge of positivity and microbiological results in septic patients“ – Schwarzenbacher, Kuhn, Vollmer, Scheer, Fuchs, Rehberg, Balau, Hahnenkamp, Bohnert, Gründling [57]

Als Beobachtungsstudie generierten wir aus dem ursprünglich angelegten Datenpool ein Kollektiv von 3549 Blutkulturpaaren von 657 septischen Patienten der Intensivstation. 2381 Blutkultursets davon dienten als Vergleich und wurden in dem mikrobiologischen Labor des Universitätsklinikums Greifswald zwischen 2010 und 2012 bebrütet. 1168 Paare wurden direkt auf der Intensivstation bebrütet (vgl. Abbildung 4 entsprechend Fig 1, Flow chart of blood culture sets included aus Schwarzenbacher et al. [57])

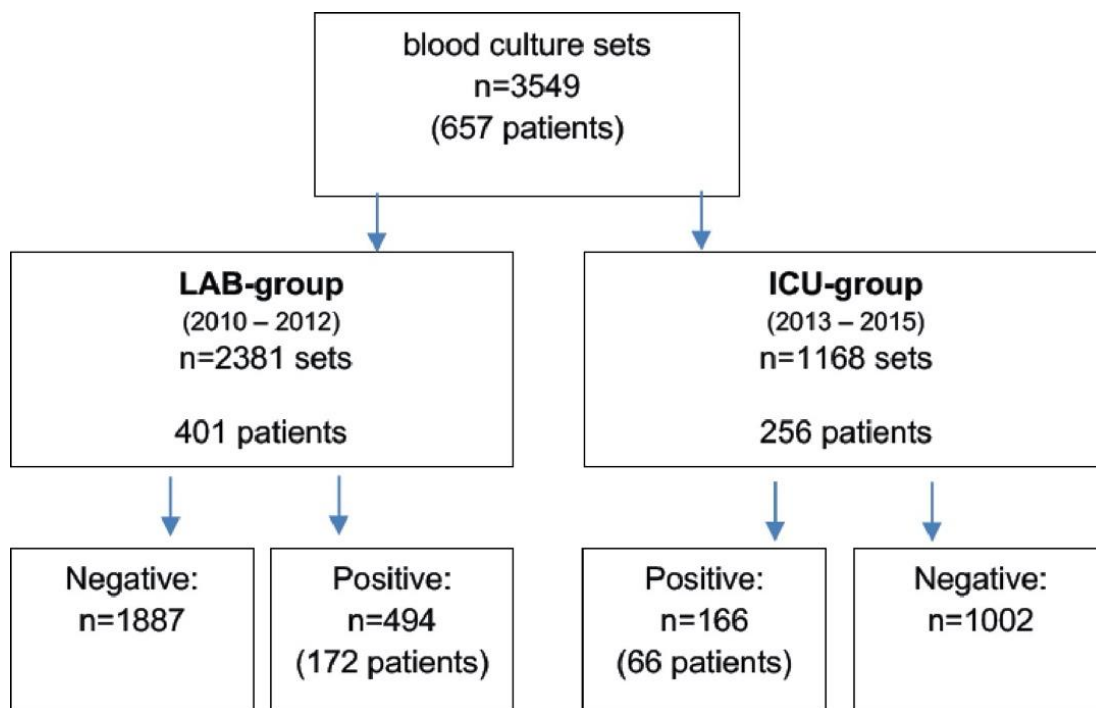


Abb. 4: Flussdiagramm über die eingeschlossenen Blutkultursets. Die Blutkulturen wurden entweder in dem entfernt gelegenen mikrobiologischen Labor (LAB group) oder direkt auf der Intensivstation (ICU group) bebrütet – entsprechend Fig 1. aus Schwarzenbacher et al. – Flow chart of blood culture sets included. Blood cultures (n) were either incubated at the remote microbiology laboratory (LAB group) or incubated on-site at the intensive care unit (ICU group) [57]

Im unmittelbaren Vergleich der beiden Gruppen zeigte sich eine höhere Positivitätsrate der im Labor bebrüteten Blutkultursets (20,7 % in der LAB-group im Gegensatz zu 14,2 % in der ITS-group, $p < 0,001$). Knapp über ein Drittel (35,0 %) der Blutkulturen der LAB-group wurden in den ersten 4 Stunden nach Entnahme bebrütet und etwas über die Hälfte (51,8 %) der Blutkultursets dieser LAB-group wurden innerhalb von 8 Stunden nach Entnahme bebrütet. Zudem zeigte sich, dass ein Großteil der Blutkulturen außerhalb der Laboröffnungszeiten abgenommen wurde. Im Gegensatz dazu wurden alle abgenommenen Blutkultursets der ICU-group innerhalb der ersten Stunde nach Entnahme bebrütet. Blutkultursets mit einer längeren Zeit von Entnahme bis Inkubation (TTI) wiesen im Mittel auch eine längere Zeit bis zur Blutkulturpositivität (TTP) auf, vgl. Tabelle 2 entsprechend Table 3, Processing time of blood cultures processed in the laboratory and at the ICU aus Schwarzenbacher et al. [57]).

Tab. 2: Durchlaufzeiten von Blutkultursets mit einer Bebrütung extern (LAB group) oder auf der ITS (ICU group) entsprechend Table 3. aus Schwarzenbacher et al. – Processing time of blood cultures processed in the laboratory and at the ICU [57]

	LAB group (n = 494)			ICU group (n = 166)	P-value***
	TTI ≤ 4 h (n = 173)	4 h < TTI ≤ 8 h (n = 83)	TTI > 8 h (n = 237**)		
Time to positivity (TTP), mean* (CI)	20.8 (19.1–22.9)	22.4 (20.9–24.7)	30.6 (27.9–34.0)	28.0 (23.6–32.2)	<0.001
Time to knowledge of positivity (TTK), mean* (CI)	44.7 (29.3–49.8)	36.0 (32.6–54.0)	47.8 (43.9–65.0)	28.0 (23.6–32.2)	<0.001
Time to first antimicrobial susceptibility results (TTR), mean* (CI)	50.6 (49.3–51.7)	57.5 (54.8–76.2)	65.3 (62.8–67.0)	42.1 (39.1–47.5)	0.005

* restricted mean duration in hours with 95% confidence interval.

** 1 observation deleted due to missing data.

*** P-value of logrank test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t003>

Insgesamt konnten wir zeigen, dass eine unmittelbare Bebrütung der Blutkulturen septischer Patienten zu einer signifikanten Reduktion der TTK und der TTR führt. Bezüglich der TTK fanden wir einen Zeitvorteil von 18.9 h und der TTR von 19,3 h bei einer unmittelbaren Blutkulturbebrütung auf der ITS. Auch eine Blutkulturbebrütung vor Ort erbrachte im Vergleich ein schnelleres Ergebnis (TTR), als eine Bebrütung der Blutkultursets im entlegenen Labor.

60,24 % der Blutkulturen der LAB-group zeigten ein positives Wachstumssignal außerhalb der Laboröffnungszeiten. 12,29 % der Blutkulturen wurden während der Laboröffnungszeiten beimpft und wiesen ein Erregerwachstum während der regulären Öffnungszeit des Labors auf.

Bei der Bewertung unterschiedlicher, bereinigter Einflüsse auf die TTR mittels eines linear gemischten Modells zeigte eine Bebrütung vor Ort (ICU-group) den größten Zeitvorteil für die Blutkultursets. Ein weiterer entscheidender Einfluss ist die Öffnungszeit des mikrobiologischen Labors mit einem geschätzten Zeitvorteil von 11,44 Stunden, wenn das Labor geöffnet ist, vgl.

Tabelle 3 Ergebnisse des linearen, gemischten Modells für die TTR entsprechend Table 4 aus Schwarzenbacher et al. Results of the linear mixed model for TTR [57].

Tab. 3: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für die TTR mit Darstellung der Schätzungen in Stunden mit Angabe des Standardfehlers und der p-Werte entsprechend Table 4. aus Schwarzenbacher et al. – Results of the linear mixed model for TTR [57]

	Estimate (hours)	Standard error	P-value
(Intercept)	38.82	2.45	< 0.001
LAB group (TTI ≤ 4h)	(reference)		
LAB group (4h < TTI ≤ 8 h)	1.93	3.57	0.589
LAB group (TTI > 8 h)	-0.82	2.69	0.762
ICU group	-15.18	2.96	< 0.001
Microbiology open at growth detection	-11.44	2.16	< 0.001
No anti-infective therapy at sampling	-0.55	2.32	0.813
Time to positivity (TTP)	1.02	0.03	< 0.001

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t004>

5 Zusätzliche Ergebnisse des Datenkollektivs

5.1 Patientengut

Insgesamt wurden im Beobachtungszeitraum 4895 Blutkulturpaare von 942 Erkrankten der Intensivstation untersucht. 2381 in der Labor-Gruppe und 2642 in der ITS-Gruppe. Die beiden untersuchten Gruppen sind hinsichtlich ihres Alters vergleichbar. (vergleiche Tabelle 4 „Patientencharakteristik“).

Tab. 4: Patientencharakteristik zum Zeitpunkt der Blutabnahme

	Labor-Gruppe	ITS-Gruppe	p-Wert
Patientenzahl, n	421	521	
Männlich, n (%)	276 (65,56 %)	339 (65,07 %)	0,891
Weiblich, n (%)	145 (34,44 %)	182 (34,93 %)	
Alter*, a ± SD	66 ± 12,85	66 ± 14,15	1
Sepsispatienten, n (%)	421 (100 %)	162 (31,09 %)	< 0,05
Liegedauer ITS, d ± SD	19,62 ± 21,41	12,97 ± 13,50	< 0,05

(* = Durchschnittswerte, n = Anzahl, d = Tage, a = Jahre, % = relativer Anteil)

5.2 Abnahmezeit und Zeit bis zur Blutkulturbebrütung – Time to blood culture incubation (TTI)

Betrachtet man die gesamte Beobachtungspopulation inklusive der negativen Blutkultursets, so fand in der Labor-Gruppe bei mehr als der Hälfte (n = 1386, 58,21 %, CI 56,2 – 60,2 %) der Blutkulturen die Abnahme außerhalb der Laboröffnungszeiten bzw. außerhalb der festgelegten Transportzeiten zum Labor statt. Die Abnahmezeit in der ITS-Gruppe spielt in Bezug auf die

vereinbarten Transportzeiten keine Rolle, da der Bebrütungsbeginn nicht vom Transport zum Labor abhängig ist.

Die Zeitdifferenz zwischen Blutkulturabnahme und Bebrütungsbeginn im Labor betrug für die Proben der Labor-Gruppe im Median 7,37 Stunden (IQR 10,94). Blutkulturen, die während der vereinbarten Transportzeiträume abgenommen wurden, wurden im Median nach 2,63 Stunden (IQR 2,5) bebrütet. Außerhalb dieser Zeiträume betrug die mediane Zeit bis zur Bebrütung 11,72 Stunden (IQR 7,44), $p < 0,001$. 61,86 % (CI 59,87 – 63,81 %) der abgenommenen Blutkulturen der Labor-Gruppe wiesen eine TTI von mehr als 4 Stunden auf. Bei 87,13 % (CI 85,17 – 88,43 %) der Blutkulturen der Labor-Gruppe war der Bebrütungsbeginn mehr als 2 Stunden nach Blutkulturabnahme.

5.3 Zeit bis zur Erregerdetektion – Time to blood culture positivity (TTP)

Im Median wiesen wachstumspositive Blutkulturen der Labor-Gruppe ein positives Wachstumssignal nach 26,75 Stunden (IQR 24,65) auf. Nicht kontaminierte, positive Blutkulturen der ITS-Gruppe lösten ein Wachstumssignal nach im Median 24,42 Stunden (IQR 24,48) aus, $p = 0,082$. Bezieht man alle Wachstumssignale der ITS-Gruppe (inklusive reaktiv positiver Blutkulturen und Blutkulturen, die im Verlauf als Kontamination gewertet werden mussten) in die Berechnung mit ein, so ergibt sich eine mediane Zeit bis zur Positivität von 27,58 Stunden (IQR 43,87). Die Zeitdifferenz zu den positiven Blutkulturen der Laborgruppe beträgt in diesem Fall + 0,83 Stunden, $p 0,694$.

5.4 Zeit bis zum Wissen um Positivität – Time to knowledge of positivity (TTK)

Nach im Median 34,77 Stunden wurden die behandelnden Ärzte der Intensivstation in insgesamt 233 Fällen über eine Kulturpositivität von Blutkulturproben der Labor-Gruppe durch Mitarbeiter des mikrobiologischen Instituts telefonisch informiert (IQR 24,65). In der ITS-Gruppe ertönte das Positivitätssignal im Median bereits nach 24,42 Stunden (IQR 24,48, $p < 0,05$).

5.5 Zeit bis zum mikrobiologischen Endbefund – Time to microbiological result (TTR)

Analog zur untersuchten Stichprobe in der beigefügten Publikation (On site incubation 2019) ergab sich ein signifikanter Zeitvorteil hinsichtlich der Zeit bis zum mikrobiologischen Endbefund für Proben der ITS-Gruppe von 20,57 Stunden (Median 40,96 Stunden, IQR 53,08) gegenüber Proben der Labor-Gruppe (Median 61,53 Stunden, IQR 38,45, $p < 0,05$).

5.6 Mikrobiologische Untersuchungsergebnisse

5.6.1 Positivität

20,75 % der Blutkultursets der Labor-Gruppe waren positiv (CI 19,71 – 22,42 %), in der ITS-Gruppe insgesamt waren das 12,26 % ($n = 324$, CI 11,07 – 13,57 %). In 9 Blutkultursets der Labor-Gruppe war trotz eines Wachstumssignal durch das BACTEC™ FX Bebrütungssystem in der Anzucht und Gramanalyse kein mikrobielles Wachstum nachweisbar. In der ITS-Gruppe waren es entsprechend 17 Sets, das entspricht 0,64 % (CI 0,39 – 1,04 %) aller Blutkulturen der ITS-Gruppe und 4,99 % der Blutkulturen mit einem Wachstumssignal (CI 3,08 – 7,89 %). Die entsprechenden Befunde wurden als reaktiv gekennzeichnet.

5.6.2 Kontamination

In der Labor-Gruppe sind aus rein mikrobiologischer Sicht retrospektiv 27 positive Blutkulturen als Kontamination zu werten (13,24 %, CI 9,21 – 18,62 %). In der ITS-Gruppe sind es 22,88 %, das entspricht einer Anzahl von 35, CI 16,9 – 30,18, $p = 0,02$.

5.6.3 Gramanalyse

Insgesamt konnten nach Ausschluss von Kontaminationen und nach einer Patientenbereinigung der positiven Blutkulturen 276 Erregerbesiedlungen nachgewiesen werden, für die ITS-Gruppe ergab sich eine Betrachtungsmenge von 101. Den größten Anteil machten dabei Koagulase negative Staphylokokken (KNS) (19,57 %, CI 15,30 – 24,67 % in der Labor-Gruppe beziehungsweise 13,86 %, CI 8,32 – 22,06 % in der ITS-Gruppe) und gramnegative Erreger (21,74 %, CI 17,26 – 26,99 % in der Labor-Gruppe respektive 17,82 %, CI 11,49 – 26,51 % in der ITS-Gruppe) aus. Die Nachweisraten in der ITS-Gruppe unterschied sich in der Anzahl der Anaerobier-Nachweise signifikant von denen der Labor-Gruppe, $p < 0,05$. Anteilig fanden

sich dort 8 Anaerobier-Isolationen (7,92 %, CI 3,86 – 15,07 %), während es in der Labor-Gruppe 1,81 % waren, n = 5 CI 0,65 – 4,29 % (vgl. Abbildung 5).

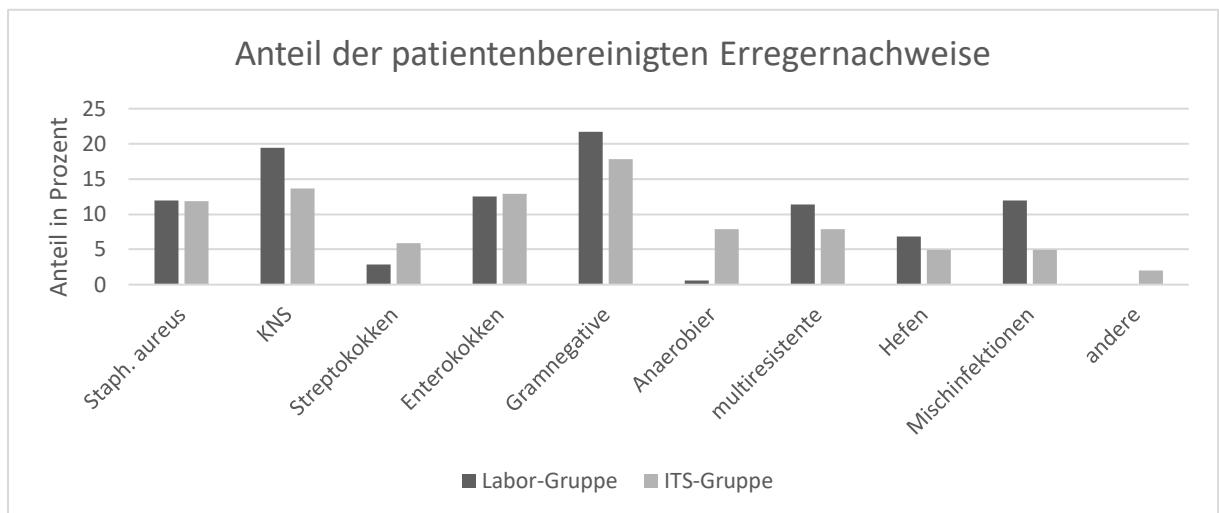


Abb. 5: Anteil der patientenbereinigten Erregernachweise am Gesamterregerspektrum der Labor-Gruppe (dunkelgrau) und der ITS-Gruppe (hellgrau) in Prozent

6 Diskussion

6.1 Blutkulturen als zentraler Punkt der Diagnostik

Durch eine wachstumspositive Blutkultur kann bereits seit einigen Dekaden sowohl die Diagnose einer Sepsis gestützt werden, eine kalkulierte antiinfektive Therapie ermöglicht werden, als auch prognostische Vorhersagen zum Krankheitsverlauf getroffen werden [9]. Eine portugiesische Studie konnte eine signifikante Reduktion der 28-Tage-Mortalität bei einer zeitigen Blutkulturentnahme binnen 6 Stunden zeigen [10]. Trotz der Nachteile dieser Diagnostik wie etwa der langen Dauer bis zum Endergebnis, der zum Teil niedrigen Positivitätsrate und fortwährender technischer Fortschritte im Bereich der mikrobiologischen Diagnostik, bilden Blutkulturen den Goldstandard für die Diagnose einer Bakteriämie und damit einhergehend auch der Sepsis [2, 5]. Bisher konnte sich kein ausgereiftes Screening Tool bezüglich einer Sepsisdiagnostik durchsetzen [22], weshalb zur Unterstützung der vermeintlichen Sepsisdiagnose eine positive Blutkultur viel mehr auch ein wichtiger Hinweis in der Diagnosefindung und im Therapiemanagement sein kann. Das jedoch die initiale Blutkulturdiagnostik in der aktuellen Leitlinie der SSC keine explizite Nennung findet, überrascht [55]. Zumal in dem Hour-1 Bundle (ebenfalls von der SSC) als Leitfaden für die initiale Diagnostik und Behandlung der Sepsis und des septischen Schocks die Abnahme von

Blutkulturen vor dem Beginn einer Breitspektrumantibiotika Therapie gefordert wird [62]. Jüngere Studien konnten pro- und retrospektiv den positiven Effekt einer Blutkulturentnahme vor Beginn einer antiinfektiven Therapie aufzeigen [48, 53].

6.2 Blutkulturtransport und Time to Incubation (TTI)

Die hier vorgelegten und auch die publizierten Daten zeigen einen erheblichen Zeitvorteil einer vor Ort Blutkulturbebrütung gegenüber einer Bebrütung in einem örtlich getrennten mikrobiologischen Institut. In unserem Setting war das mikrobiologische Labor ausgelagert, beimpfte Blutkulturen der Vergleichsgruppe (Labor-Gruppe) mussten per Auto-Transport von der Universitätsklinik zu den Inkubatoren im Labor verbracht werden. Dass das nicht die Ausnahme, sondern eher die Regel in Europa ist, zeigten unter anderem Idelevich et al. 2019. Kliniken mit dem Vorteil eines angeschlossenen mikrobiologischen Labors haben zum Teil den Nachteil, dass sie nicht permanent geöffnet haben [31, 51]. Dadurch ergibt sich wie auch in unserer Labor-Gruppe eine deutlich verlängerte Präanalytik-Periode.

Die gefundene mediane Zeit bis zur Bebrütung (TTI) bei Blutkulturen der Labor-Gruppe von 7,37 Stunden wird durch andere europäische und außereuropäische Studien unter anderem von Rönneberg et al. bestätigt [34, 51, 52]. Wie in den vorgelegten Daten gezeigt werden konnte, wird damit die empfohlene Zeit von Blutkulturentnahme bis zur Blutkulturbebrütung von 2 beziehungsweise 4 Stunden in mehr als der Hälfte der Fälle überschritten [13, 64]. Eine verspätete Bebrütung der Blutkulturen kann unter anderem eine niedrigere Positivitätsrate [2, 52] und eine höhere Mortalität durch die folglich spätere adäquate Therapie [17] begünstigen. Akan und Yildiz konnten zeigen, dass gerade für bestimmte Mikroorganismen, wie die häufigen Sepsisverursacher *E. coli* und *Enterococcus faecalis* sowie für die Anaerobier *Acinetobacter* und *Bacteroides*, die Positivitätsrate bei einer TTI > 24 h abnimmt. Bei ausbleibendem Nachweis der Erreger fehlt demzufolge ein Resistogramm zur Therapieanpassung und -optimierung [2].

6.3 Time to Positivity (TTP)

Analog zu den hier gezeigten Daten fanden auch Kerremans et al. eine Verkürzung der Zeit bis zur Kulturpositivität (TTP) in ihrer prospektiven randomisierten kontrollierten Studie über eine sofortige Blutkulturinkubation außerhalb der regulären Laboröffnungszeiten durch Installation

eines Inkubators direkt vor dem geschlossenen Labor [35]. Vergleichbare Ergebnisse erhalten wir bei einem Vergleich der Labor-Gruppe und der ITS-Gruppe, insbesondere, wenn Blutkulturen betrachtet werden, die außerhalb der Öffnungszeiten des mikrobiologischen Labors abgenommen wurden. Im Gegensatz dazu konnte eine taiwanische Studie von Janapatla keinen generellen Zeitvorteil einer unmittelbaren Blutkulturbebrütung detektieren. Allerdings wurde hier die Zeit bis zur Erregerdetektion (TTD) als Zeitdifferenz vom Eintreffen der Blutkultur im Labor bis zum Wachstumssignal betrachtet und entspricht damit der reinen Inkubationszeit ohne Beachtung der Transportzeit. Die Ergebnisse sind demnach nicht mit den hier gezeigten Daten vergleichbar [32].

Dass der Zeitverlust einer externen Bebrütung durch einen Transport der beimpften Blutkulturen bis zur Inkubation jedoch nicht dem Zeitvorteil einer vor Ort Bebrütung unmittelbar entspricht, lässt sich durch eine Studie von Adamik et al. bereits annehmen und bestätigt sich auch in unseren Daten. Die Studiengruppe um Adamik zeigte durch die kontrollierte Beimpfung von Blutkulturflaschen, dass bei einem verzögerten Bebrütungsbeginn von 24 bzw. 36 Stunden die reine Inkubationszeit abnimmt. Als Grund plädieren sie für ein bereits begonnenes Koloniewachstum bei Raumtemperatur [1]. Dieser Faktor kann den fehlenden Unterschied der TTP zwischen Kulturen der ICU-group und Blutkulturen mit kurzer TTI (< 8 h) in unseren Daten erklären.

6.4 Time to Knowledge (TTK)

Die Zeit bis zum Wissen um Blutkulturpositivität (TTK) wurde durch Etablierung einer unmittelbaren vor Ort Inkubation um über 10 Stunden verkürzt. Dieses Wissen kann gemeinsam mit anderen Faktoren wie z.B. das Serumlaktatlevel, die SIRS Kriterien oder auch das Procalcitonin (PCT) Level im Rahmen der Differentialdiagnostik einen entscheidenden Einfluss auf den weiteren Therapieverlauf haben [49]. Die aktuelle Empfehlung der SSC lautet jedoch unter Berücksichtigung von 3 randomisierten kontrollierten Studien das PCT Level nicht als Entscheidungshilfe hinsichtlich des Beginnes einer antiinfektiven Therapie hinzuziehen, da eine Metaanalyse keinen Vorteil für die Patienten bei einem unbekanntem Kostenfaktor für die Diagnostik belegen konnte. Als ein zusätzlicher Parameter zur Entscheidung über die Therapiedauer mit Antiinfektiva sollte das PCT Level jedoch berücksichtigt werden (SSC 2021). Zentraler Vorteil in der Reduktion der TTK ist es, dass frühzeitige diagnostische und therapeutische Konsequenzen aus der Blutkulturpositivität gezogen können, insbesondere wenn

in kurzem Zeitabstand mehrere zusammengehörige Blutkulturen ein Wachstumssignal aufweisen. Patienten sollten erneut klinisch untersucht werden, eine Reevaluation des vermeintlichen Fokus erfolgen, bei Bedarf weitere (Schnitt-) Bildgebung initiiert werden und nicht zuletzt muss die antiinfektive Therapie überprüft werden. Entsprechende klinische Kaskaden können ebenfalls erreicht werden, wenn die Blutkulturinkubation nicht unmittelbar auf Station erfolgt, das Wachstumssignal aber zum Beispiel elektronisch übermittelt wird. In wie weit dann jedoch erneute Transportwege und logistische Abläufe vor Blutkulturbebrütung die Inkubation verzögern und damit die TTK verlängern, müsste untersucht werden. Zudem sollte untersucht werden, ob bei einer Bebrütung außerhalb der Intensivstation ein elektronisches Wachstumssignal in dieser eher passiven Situation der Behandler gleiche Konsequenzen unmittelbar nach sich zieht. Vorstellbar ist, dass durch unmittelbar geforderte Abläufe (Entnahme der entsprechenden Blutkultur aus dem Inkubator und Vorbereitung des Blutkulturtransports), die Aktivität und Aufmerksamkeit des Intensivteams in einem besonderen Maße gefördert wird.

Tabak et al. machen darauf aufmerksam, dass auch permanent geöffnete mikrobiologische Laboratorien noch zu einer Verzögerung der Blutkulturdiagnostik führen können. In der Studie zeigten sie, dass überproportional viele Erregeridentifikationen und Resistogramme während des Vormittags abgeschlossen wurden. Sie gehen davon aus, dass durch feste Arbeitsabläufe eine Blutkulturpositivität nicht unmittelbar zur weiteren Diagnostik und Mitteilung der Ergebnisse an das Team der Behandler führt [61]. Durch diesen Einwand scheint eine Reduktion der TTK durch eine vor Ort Bebrütung umso wichtiger.

6.5 Time to Result (TTR)

Der vorbeschriebene Zeitvorteil in der TTK durch eine vor Ort Bebrütung verdoppelte sich bei unserer Stichprobe bei Betrachtung der Zeit von der Entnahme der Blutkulturen bis zum mikrobiologischen Endbefund (TTR) noch einmal. Gemäß dem linear gemischten Modell hat eine Blutkulturbebrütung am Ort der Entnahme in unserem Setting den größten Einfluss auf die Reduktion der TTR. Wir konnten nicht zeigen, dass eine antiinfektive Therapie zum Zeitpunkt der Blutkulturentnahme einen Einfluss auf die TTR hat. Eine niederländische Studiengruppe zeigte jedoch in ihrer Analyse einen negativen Einfluss einer antiinfektiven Therapie zum Zeitpunkt der Blutabnahme auf die TTP [39]. Die Betrachtung unserer Daten zeigt wiederum eine Korrelation von TTR und TTP. Ein zumindest geringer Einfluss einer intravenösen

antiinfektiven Therapie zum Zeitpunkt der Blutentnahme auf die TTR muss also diskutiert werden. Es ist zu bedenken, dass eine frühe Diagnose einer Infektion oder Kolonisierung mit einem multiresistenten Krankheitserreger zu einer schnellen adäquaten Therapie führen kann. Eine Reduktion der TTR ist demnach durchaus von großem Interesse. Eine verspätete Erregereradikation nach über 7 Tagen ist unter anderem vergesellschaftet mit einer erhöhten 30 – Tage – Mortalität und höheren Behandlungskosten, da oft keine orale antiinfektive Therapie verfügbar ist und sich damit die Krankenhausaufenthaltsdauer verlängert [6, 43].

6.6 Erregerspektrum

Die patientenbereinigte Erregerdifferenzierung lehnten wir an die Einteilung gemäß Cockerill an: Ein Erregernachweis wurde als solcher aufgeführt, wenn er a) das erste Mal bei der Person nachweisbar war oder b) mindestens 7 Tage nach dem letzten Erregernachweis der gleichen Art auftrat [14]. In den vorgelegten Daten fanden wir einen signifikanten Anstieg an Anaerobiernachweisen bei einer unmittelbaren Blutkulturbebrütung. Weitere signifikante Unterschiede bei sofortiger Blutkulturinkubation in dem Erregerspektrum konnten wir mit unserer Studie nicht zeigen. Ob die Zunahme der Anaerobierdetektion an der von Akan et al. beschriebenen Abnahme der Positivitätsrate bei einer verzögerten Blutkulturbebrütung liegt, kann nur gemutmaßt werden [2]. Eine andere Untersuchung konnte unter Studienbedingungen keine signifikante Reduktion der Erregernachweise bei Anaerobiern trotz verzögerter Inkubation zeigen. Dazu wählte die Gruppe um Adamik 15 häufige Sepsiserreger aus, die nach der kontrollierten Beimpfung der Blutkulturflaschen in einem BACT/ALERT Virtuo System bebrütet wurden [1]. Eine Übertragbarkeit auf andere klinische Studien und ein Vergleich mit der bei uns vorliegenden Situation ist damit nur eingeschränkt möglich.

6.7 Blutkulturkontamination

Eine Blutkulturkontamination ist definiert als ein Nachweis von Mikroorganismen aus Blutkulturen, die entweder während der Entnahme oder der Blutkulturbearbeitung bzw. Analyse in die Blutkulturflasche gelangen und keinen Krankheitswert für den Patienten haben [15]. Eine Entscheidung, ob der Erregernachweis aus der Blutkultur dem für die Sepsis ursächlichen Mikroorganismus entspricht, obliegt in letzter Konsequenz den Behandlern. Bei insgesamt fehlendem klinischen Standard zur Klassifizierung von positiven Blutkulturen als Kontamination [66] wurde sich in den vorliegenden Untersuchungen gemeinsam mit den

Klinikern auf eine retrospektive, mikrobiologisch gestützte Definition einer Blutkulturkontamination geeinigt und klinische Faktoren wie Fieber zum Zeitpunkt der Entnahme, Erregernachweis passend zum vermuteten Infektionsfokus sowie eine antiinfektive Therapie zum Zeitpunkt der Blutkulturabnahme wurden vernachlässigt. Die reale Kontaminationsrate ist demnach vermutlich niedriger als angegeben. Im Endeffekt bleibt der Erregernachweis und die daraus folgenden Konsequenzen wie Therapieanpassung immer eine Einzelfallentscheidung, abhängig von weiteren klinischen Faktoren. Die häufigsten, als Kontamination gewerteten Mikroorganismen sind Koagulase negative Staphylokokken (KNS). Gemäß einer Studie von Weinstein et al. nahm jedoch die Relevanz von KNS als Pathogen im Verlauf der Zeit deutlich zu [66]. In den vorliegenden Daten kann der Anstieg an positiven Blutkulturen, die als Kontamination zu werten sind, bei unmittelbarer Bebrütung gegebenenfalls dahingehend erklärt werden, dass eine geringe Erregerlast (wie bei einer Kontamination zu erwarten ist) durch die sofortige Bebrütung vermehrt wird und damit ein Wachstumssignal ausgelöst werden kann. In diese Richtung muss jedoch weiter untersucht werden. Auch Weinstein berichtete über einen generellen Anstieg der Kontaminationsrate [67]. Durch den retrospektiven Charakter unserer Beobachtungsstudie kann auch ein Qualitätsverlust die höhere Kontaminationsrate bedingen. Durch das Team des Sepsisdialogs und fortwährende Mitarbeiterschulung wird jedoch permanent angestrebt die Qualität der Sepsistherapie zu steigern, als eine Folge zeigte sich eine Reduktion der 90-Tage Sterblichkeit [54]. Zudem kann der höhere Anteil an Kontaminationen in unserer Studie in der ITS-Gruppe einen weiteren Ursprung in dem vergleichsweise höheren Anteil nicht septischer Patienten haben. Weinstein et al. fanden 1997 sogar eine Kontaminationsrate von 41,5 % bei ihrer Studie über 1585 Blutkulturen von septischen und nicht septischen Patienten aus 3 verschiedenen Krankenhäusern [67]. Durch die hier vorgenommene Einteilung der Erregernachweise in Kontamination (ausgehend von Erreger, Anzahl der positiven Blutkultursets und TTP) und reale Erregernachweise sind die vorliegenden Daten nicht ausreichend mit den Ergebnissen prospektiver Studien und Metaanalysen zu vergleichen [29, 66]. Souvenir et al. fanden in ihrer Studie bei 35 % der Patienten mit klinisch signifikanter KNS-Bakteriämie nur ein positives Blutkulturset [60]. Vergleichbare Erregernachweise wären in der vorgelegten Studie durch uns als Kontamination eingestuft worden.

Durch die finanziell teils drastischen Folgen einer intravenösen antiinfektiven Therapie von Patienten mit positiven Blutkulturen sowie mehr noch deren gesundheitlicher Nachteile, zum Beispiel durch therapieassoziierte Erkrankungen wie *Clostridium difficile* Colitis bei Schädigung des intestinalen Mikrobioms [42, 60] und aber auch wie bereits in Punkt 1.4

beschrieben die Zunahme des relativen Anteils an Infektionen mit multiresistenten Krankheitserregern durch einen erhöhten Selektionsdruck bei freizügiger Antiinfektiva-Therapie [36, 44, 47], lohnt eine weitere Beobachtung und Auswertung der Kontaminationen durch eine vor Ort Bebrütung in einer prospektiven Studie.

6.8 Positivitätsrate und falsch positive Befunde der Blutkulturinkubation

In unseren Daten zeigt sich ein relativer Anstieg von Blutkulturen mit Wachstumssignal, bei denen jedoch im Verlauf kein mikrobielles Wachstum nachweisbar war. Diese, im abschließenden Befundbericht als reaktiv klassifizierten Blutkulturen, können durch eine Überbefüllung der Blutkulturflaschen oder bei einer extremen Leukozytose des Patienten zum Zeitpunkt der Blutentnahme zustande kommen [40]. Eine Dokumentation der Füllungsvolumina findet jedoch nicht statt. Hier besteht die Gefahr, dass das Team der Behandler das Positivsignal als echt interpretiert und die empirische antiinfektive Therapie fortsetzt oder erweitert, da eine Bakteriämie vorgetäuscht wird. Wie bereits in der Einleitung beschrieben ist eine Sepsis ein komplexes Krankheitsbild und die Entscheidung für den Beginn und das Fortführen einer antiinfektiven Therapie sollte von vielen Faktoren abhängig sein. Die Kliniker sollten bei jedem Positivsignal folglich nicht nur die Möglichkeit einer Kontamination in Betracht ziehen, sondern auch bedenken, dass das Signal falsch positiv sein kann. Die Klinik des Patienten zum Zeitpunkt der Kulturpositivität und deren Entwicklung bis dahin ist von immenser Bedeutung für die Therapieentscheidung.

Die insgesamt relativ niedrige Positivitätsrate unserer Studiengruppen lässt sich gegebenenfalls durch eine schnelle empirische antiinfektive Therapie erklären. Durch den Einsatz von Breitspektrumantibiotika könnte die Erregerlast gesenkt sein und somit unter der Nachweisgrenze liegen. Generell ist die Positivitätsrate abhängig von vielen Faktoren und nimmt mit der Anzahl der korrekt befüllten BK zu [14]. Im Konsens mit weiteren Studien konnte auch eine Greifswalder Studie die Relevanz einer Blutkulturentnahme vor einer antiinfektiven Therapie belegen [48, 53]. Hefner et al. konnten durch ihre Daten zeigen, dass 32 % der blutkulturnegativen Patienten mit initial vermuteter Sepsis eine nicht infektiöse Ursache für ihre sepsisähnlichen Symptome hatten. Ursächlich waren dabei unter anderem Hypovolämie, Nebenniereninsuffizienz, ein akuter Myokardinfarkt oder eine akute Lungenarterienembolie [30]. Durch Personalschulung und die Einbeziehung paraklinischer Faktoren (wie PCT Level) in die endgültige Diagnose wird versucht diese Differentialdiagnosen

möglichst sicher auszuschließen. Auch die aktuelle internationale Leitlinienfassung trägt diesem Problem Rechnung. Demnach soll bei Patienten mit einer möglichen Sepsis ohne Schock und einer wahrscheinlichen Alternativdiagnose eine empirische antiinfektive Therapie erst begonnen werden, wenn auch 3 Stunden nach Erkennen der Symptome eine Sepsis als Ursache noch vermutet wird bzw. Differentialdiagnosen bis dahin als unwahrscheinlich ausgeschlossen werden konnten [22].

Die Phua Studie, die in einem ähnlichen Zeitraum wie die Datenerhebung der Labor-Gruppe in dieser Untersuchung erfolgte, die Aufschluss über die Unterschiede zwischen schwerer Sepsis mit beziehungsweise ohne kulturellen Erregernachweis gibt, zeigt, dass eine blutkulturpositive schwere Sepsis assoziiert ist mit einer erhöhten Mortalität und einem verlängerten Krankenhausaufenthalt [46]. Gleiches zeigten auch Heffner et al. 2010 [30]. Ein unabhängiger Vorhersagewert für den Krankheitsverlauf ist eine Blutkulturpositivität allerdings nicht [46]. Ein zeitnahes Wachstumssignal der Blutkultur kann im besten Fall zu einer erhöhten Wachsamkeit beitragen und so als ein weiteres Indiz für einen schweren Krankheitsverlauf gelten.

6.9 Methodenkritik

Die meines Wissens bis zu diesem Zeitpunkt einzige so angelegte Untersuchung ist nicht ohne Limitationen zu betrachten. Dadurch, dass unsere Daten monozentrisch erhoben wurden, sind sie nicht ohne Weiteres auf andere Krankenhäuser und Patienten übertragbar. Unsere gezeigten Daten sind nicht vereinbar mit Zentren, denen eine 24-stündige mikrobiologische Diagnostik zur Verfügung steht oder bei denen ein Blutkulturtransport nicht regelhaft vorkommt. Durch den retrospektiven Vergleich von 2 Gruppen zu unterschiedlichen Zeitpunkten ergibt sich ein nicht zu bezifferndes Bias. Während in der Labor-Gruppe nur Blutkulturen von schwer septischen Patienten oder Patienten im septischen Schock eingeschlossen wurden, wurden in der ITS-Gruppe primär alle auf der ITS abgenommenen Blutkulturen in die Studie eingeschlossen und die aquirierten Daten anschließend in entsprechende Subgruppen eingeteilt. Das gemischte Studiendesign mit einem initialen Beobachtungszeitraum und erst anschließender Intervention (Installation des BD BACTEC™ FX Bebrütungssystem) bedingt eine nur eingeschränkte Vergleichbarkeit, da zwischen der Datenerhebung der unterschiedlichen Gruppen eine deutliche Zeitdifferenz besteht. Eine vergleichende prospektiv angelegte Studie ohne zeitliche Differenz der Gruppen sollte zur Überprüfung unserer Beobachtungen durchgeführt werden. Auch die

rein mikrobiologisch gestützte Einteilung in kontaminierte und nicht kontaminierte Blutkulturen führt zu einer eingeschränkten Vergleichbarkeit mit anderen Daten. Von großem Interesse wäre eine Überprüfung unserer Thesen und Schlussfolgerungen in mehreren prospektiven, multizentrischen Studien, um valide Empfehlungen für die logistischen Abläufe bei der Diagnostik der kritisch kranken Sepsispatienten zu erhalten.

6.10 Änderung der Definition

Im zeitlichen Verlauf bis zur Vorlegung dieser Dissertation änderte sich die Sepsisdefinition. Es ist jedoch anzunehmen, dass die als septisch eingestuften Patienten auch heute noch als septisch gelten und damit mit jüngeren Daten vergleichbar sind. Zudem ist der Kernpunkt der Untersuchung ein möglicher Zeitvorteil durch eine Bebrütung von Blutkulturen vor Ort. Da sich die Zeitvorteile der ITS-Gruppe in der Zeit bis zum mikrobiologischen Ergebnis zwischen septischen und nicht septischen Patienten nicht signifikant voneinander unterscheiden, ist anzunehmen, dass die hier getroffene Grundaussage ihre Gültigkeit behält.

7 Zusammenfassung

Sepsis ist eine der häufigsten Todesursachen und doch in der Bevölkerung und auch zum Teil von ärztlichen Kollegen unterschätzt. Bis heute bilden Blutkulturen den Goldstandard in der Diagnostik einer Sepsis. Das gerade eine schnelle Therapie für das Outcome der Erkrankten entscheidend ist, konnte bereits durch viele Studien und Publikationen gezeigt werden. Bei einer Analyse der Abläufe der Blutkulturdiagnostik im Universitätsklinikum Greifswald stießen wir auf eine deutliche Zeitverzögerung durch den Transport von beimpften, nicht bebrüteten Blutkulturen von schwer Erkrankten in das ausgelagerte mikrobiologische Labor. Als Folge verzögert sich die gesamte Kette der Blutkulturdiagnostik und damit einhergehend auch die Therapieanpassung. In unserem Setting fand sich lediglich für 12,29 % der Blutkulturen keine Zeitverzögerung durch verzögerte Transporte beimpfter Blutkulturen zum mikrobiologischen Labor oder durch ein Positivitätssignal der bebrüteten Blutkultur außerhalb der Laboröffnungszeiten für Blutkulturen der Labor-Gruppe. Um diesem Defizit entgegenzuwirken untersuchten wir den Effekt einer Blutkulturbebrütung vor Ort. Wir fanden im Vergleich zur Bebrütung im ausgelagerten Labor eine signifikante Reduktion der Zeit bis zum mikrobiologischen Ergebnis der Erregerdiagnostik mit Resistogramm (TTR). Durch die Installation eines Bebrütungssystems auf der Intensivstation konnte zudem die Zeit bis zum Wissen um Blutkulturpositivität deutlich reduziert werden. Die hier gezeigten Daten zeigen durch eine unmittelbare vor Ort Bebrütung einen Lösungsansatz für die Optimierung der Präanalytik der Blutkulturdiagnostik bei schwer kranken Patienten. Insbesondere für Kliniken mit externer Mikrobiologie können unsere Schlussfolgerungen von Interesse sein.

8 Verzeichnisse

8.1 Literaturverzeichnis

1 Adamik, M., Hutchins, A., Mangilit, J., Katzin, B., Totty, H., & Deol, P. (2021). Effect of delayed entry on performance of the BACT/ALERT FAN PLUS bottles in the BACT/ALERT VIRTUO blood culture system. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology*, 40(4), 699–705. <https://doi.org/10.1007/s10096-020-04042-z>

2 Akan, O. A., & Yildiz, E. (2006). Comparison of the effect of delayed entry into 2 different blood culture systems (BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D) on culture positivity. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 54(3), 193–196. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2005.09.016>

3 Angus, D. C., & van der Poll, T. (2013). Severe sepsis and septic shock. *The New England journal of medicine*, 369(9), 840–851. <https://doi.org/10.1056/NEJMra1208623>

4 Auerbach, U., Kielburger, G. (2004, 08. Oktober). Blutkulturdiagnostik – Vergleich der Verfahren. *Laborpraxis.Vogel*. <https://www.laborpraxis.vogel.de/blutkulturdiagnostik--vergleich-der-verfahren-a-106338/> (abgerufen 05.06.2022, 11:00 Uhr).

5 Baron, E. J. (2011) The Role of the Clinical Microbiology Laboratory in the Diagnosis of Selected Infectious Processes. *Journal of Clinical Microbiology*, 49 (9 Suppl), S25. <https://doi.org/10.1128/JCM.00842-11>

6 Bhattacharya S. (2013). Early diagnosis of resistant pathogens: how can it improve antimicrobial treatment?. *Virulence*, 4(2), 172–184. <https://doi.org/10.4161/viru.23326>

7 Bollmann, J. T. (2017). Häufigkeit der schweren Sepsis und des septischen Schocks auf Intensivstationen in Mecklenburg – Vorpommern (Dissertation, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald). Epub Ub uni-greifswald. <https://epub.ub.uni-greifswald.de/frontdoor/deliver/index/docId/2230/file/Dissertation+JB+public.pdf>

8 Brunkhorst F. M., Weigand M., Pletz M., Gastmeier P., Lemmen S.W., Meier-Hellmann A., Ragaller M., Weyland A., Marx G., Bucher M., Gerlach H., Salzberger B., Grabein B., Welte T., Werdan K., Kluge S., Bone H. G., Putensen C., Rossaint R., Quintel M., Spies C., Weiß B., John S., Oppert M., Jörres A., Brenner T., Elke G., Gründling M., Mayer K., Weimann A., Felbinger T. W., Axer H., & Deutsche Sepsis Gesellschaft e. V. (2020). S3-Leitlinie Sepsis – Prävention, Diagnose, Therapie und Nachsorge: Langfassung [S3 Guideline Sepsis-prevention, diagnosis, therapy, and aftercare: Long version]. *Medizinische Klinik, Intensivmedizin und Notfallmedizin*, 115(Suppl 2), 37–109. <https://doi.org/10.1007/s00063-020-00685-0>

9 Bryan C. S. (1989). Clinical implications of positive blood cultures. *Clinical microbiology reviews*, 2(4), 329–353. <https://doi.org/10.1128/CMR.2.4.329>

- 10 Cardoso, T., Carneiro, A. H., Ribeiro, O., Teixeira-Pinto, A., & Costa-Pereira, A. (2010). Reducing mortality in severe sepsis with the implementation of a core 6-hour bundle: results from the Portuguese community-acquired sepsis study (SACiUCI study). *Critical care* (London, England), 14(3), R83. <https://doi.org/10.1186/cc9008>
- 11 Churpek, M. M., Zdravetz, F. J., Winslow, C., Howell, M. D., & Edelson, D. P. (2015). Incidence and Prognostic Value of the Systemic Inflammatory Response Syndrome and Organ Dysfunctions in Ward Patients. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 192(8), 958–964. <https://doi.org/10.1164/rccm.201502-0275OC>
- 12 Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V., & Gordon, D. B. (1996). The rapid identification of intact microorganisms using mass spectrometry. *Nature biotechnology*, 14(11), 1584–1586. <https://doi.org/10.1038/nbt1196-1584>
- 13 Clinical and Laboratory Standards Institute. (2007). *Principles and Procedures for Blood Cultures; Approved Guideline*. CLSI document M47-A. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute
- 14 Cockerill, F. R., 3rd, Wilson, J. W., Vetter, E. A., Goodman, K. M., Torgerson, C. A., Harmsen, W. S., Schleck, C. D., Ilstrup, D. M., Washington, J. A., 2nd, & Wilson, W. R. (2004). Optimal testing parameters for blood cultures. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38(12), 1724–1730. <https://doi.org/10.1086/421087>
- 15 Dargère, S., Cormier, H., & Verdon, R. (2018). Contaminants in blood cultures: importance, implications, interpretation and prevention. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24(9), 964–969. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.03.030>
- 16 Dellinger, R. P., Levy, M. M., Rhodes, A., Annane, D., Gerlach, H., Opal, S. M., Sevransky, J. E., Sprung, C. L., Douglas, I. S., Jaeschke, R., Osborn, T. M., Nunnally, M. E., Townsend, S. R., Reinhart, K., Kleinpell, R. M., Angus, D. C., Deutschman, C. S., Machado, F. R., Rubinfeld, G. D., Webb, S. A., Beale, R. J., Vincent J.-L., Moreno, R. & Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup (2013). Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012. *Critical care medicine*, 41(2), 580–637. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e31827e83af>
- 17 Dickinson, J. D., & Kollef, M. H. (2011). Early and adequate antibiotic therapy in the treatment of severe sepsis and septic shock. *Current infectious disease reports*, 13(5), 399–405. <https://doi.org/10.1007/s11908-011-0206-8>
- 18 Dingle, T. C., & Butler-Wu, S. M. (2013). Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification. *Clinics in laboratory medicine*, 33(3), 589–609. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2013.03.001>
- 19 Dreyer, A. W. (2012). Blood Culture Systems: From Patient to Result. In (Ed.), *Sepsis - An Ongoing and Significant Challenge*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/5013918> Reinhart 2010

20 Engel, C., Brunkhorst, F. M., Bone, H. G., Brunkhorst, R., Gerlach, H., Grond, S., Gruendling, M., Huhle, G., Jaschinski, U., John, S., Mayer, K., Oppert, M., Olthoff, D., Quintel, M., Ragaller, M., Rossaint, R., Stuber, F., Weiler, N., Welte, T., Bogatsch, H., Hartog, C., Loeffler, M. & Reinhart, K. (2007). Epidemiology of sepsis in Germany: results from a national prospective multicenter study. *Intensive care medicine*, 33(4), 606–618. <https://doi.org/10.1007/s00134-006-0517-7>

21 Engelmann, L., & Schmitt, D. V. (2014). "Tarragona-Strategie" - adäquate Antibiotikatherapie auf der Intensivstation [Tarragona strategy - appropriate antibiotic therapy in the ICU]. *Medizinische Klinik, Intensivmedizin und Notfallmedizin*, 109(3), 156–161. <https://doi.org/10.1007/s00063-013-0310-7>

22 Evans, L., Rhodes, A., Alhazzani, W., Antonelli, M., Coopersmith, C. M., French, C., Machado, F. R., Mcintyre, L., Ostermann, M., Prescott, H. C., Schorr, C., Simpson, S., Wiersinga, W. J., Alshamsi, F., Angus, D. C., Arabi, Y., Azevedo, L., Beale, R., Beilman, G., Belley-Cote, E., Burry, L., Cecconi, M., Centofanti, J., Yataco, A. C., De Waele, J., Dellinger, R. P., Doi, K., Du, B., Estensoro, E., Ferrer, R., Gomersall, C., Hodgson, C., Møller, M. H., Iwashyna, T., Jacob, S., Kleinpell, R., Klompas, M., Koy, Y., Kumar, A., Kwizera, A., Lobo, S., Masur, H., McGloughlin, S., Mehta, S., Mehta, Y., Mer, M., Nunnally, M., Oczkowski, S., Osborn, T., Papatheanassoglou, E., Perner, A., Puskarich, M., Roberts, J., Schweickert, W., Seckel, M., Sevransky, J., Sprung, C. L., Welte, T., Zimmermann, J. & Levy, M. (2021). Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. *Intensive care medicine*, 47(11), 1181–1247. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06506-y>

23 Fleischmann, C., Scherag, A., Adhikari, N. K., Hartog, C. S., Tsaganos, T., Schlattmann, P., Angus, D. C., Reinhart, K., & International Forum of Acute Care Trialists (2016). Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 193(3), 259–272. <https://doi.org/10.1164/rccm.201504-0781OC>

24 Garnacho-Montero, J., Gutiérrez-Pizarra, A., Escobedo-Ortega, A., Corcia-Palomo, Y., Fernández-Delgado, E., Herrera-Melero, I., Ortiz-Leyba, C., & Márquez-Vácaro, J. A. (2014). De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Intensive care medicine*, 40(1), 32–40. <https://doi.org/10.1007/s00134-013-3077-7>

25 Gründling, M. (2022, 19. Januar). Die neue internationale Sepsis-Leitlinie Was ist neu? – Was bleibt für die Praxis? [Schulungsfolien]. Universitätsmedizin Greifswald, SepsisAkademie 2022. <https://www.medizin.uni-greifswald.de/sepsis/de/service/veranstaltungen/> (abgerufen 08.06.22, 15:30 Uhr)

26 Hagel, S., & Brunkhorst F. (2011), *Sepsis. Intensivmed* (48), 57-73. <https://doi.org/10.1007/s00390-010-0249-3>

27 Hagel, S., Pletz, M. W., Brunkhorst, F. M., Seifert, H., & Kern, W. V. (2013). Bakteriämie und Sepsis [Bacteremia and sepsis]. *Der Internist*, 54(4), 399–407. <https://doi.org/10.1007/s00108-012-3185-4>

- 28 Hajj, J., Blaine, N., Salavaci, J., & Jacoby, D. (2018). The "Centrality of Sepsis": A Review on Incidence, Mortality, and Cost of Care. *Healthcare (Basel, Switzerland)*, 6(3), 90. <https://doi.org/10.3390/healthcare6030090>
- 29 Hall, K. K., & Lyman, J. A. (2006). Updated review of blood culture contamination. *Clinical microbiology reviews*, 19(4), 788–802. <https://doi.org/10.1128/CMR.00062-05>
- 30 Heffner, A. C., Horton, J. M., Marchick, M. R., & Jones, A. E. (2010). Etiology of illness in patients with severe sepsis admitted to the hospital from the emergency department. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 50(6), 814–820. <https://doi.org/10.1086/650580>
- 31 Idelevich, E. A., Seifert, H., Sundqvist, M., Scudeller, L., Amit, S., Balode, A., Bilozor, A., Drevinek, P., Kocak Tufan, Z., Koraqi, A., Lamy, B., Mareković, I., Miciuleviciene, J., Müller Premru, M., Pascual, A., Pournaras, S., Saegeman, V., Schönheyder, H. C., Schrenzel, J., Strateva, T., Tilley, R., Wiersinga, W. J., Zabicka, D., Carmely, Y., Becker, K. & ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis (ESGBIES) (2019). Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe-an ESGBIES survey. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(11), 1399–1407. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.024>
- 32 Janapatla, R. P., Yan, J. J., Chien, M. L., Chen, H. M., Wu, H. M., & Wu, J. J. (2010). Effect of overnight storage of blood culture bottles on bacterial detection time in the BACTEC 9240 blood culture system. *Journal of microbiology, immunology, and infection = Wei mian yu gan ran za zhi*, 43(2), 126–132. [https://doi.org/10.1016/S1684-1182\(10\)60020-5](https://doi.org/10.1016/S1684-1182(10)60020-5)
- 33 Kaukonen, K. M., Bailey, M., Pilcher, D., Cooper, D. J., & Bellomo, R. (2015). Systemic inflammatory response syndrome criteria in defining severe sepsis. *The New England journal of medicine*, 372(17), 1629–1638. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1415236>
- 34 Kerremans, J. J., van der Bij, A. K., Goessens, W., Verbrugh, H. A., & Vos, M. C. (2009). Needle-to-incubator transport time: logistic factors influencing transport time for blood culture specimens. *Journal of clinical microbiology*, 47(3), 819–822. <https://doi.org/10.1128/JCM.01829-08>
- 35 Kerremans, J. J., van der Bij, A. K., Goessens, W., Verbrugh, H. A., & Vos, M. C. (2009). Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. *Journal of clinical microbiology*, 47(11), 3520–3523. <https://doi.org/10.1128/JCM.01092-09>
- 36 Köck, R., Becker, K., Idelevich, E. A., Jurke, A., Glasner, C., Hendrix, R., & Friedrich, A. W. (2020). Prevention and Control of Multidrug-Resistant Bacteria in The Netherlands and Germany-The Impact of Healthcare Structures. *International journal of environmental research and public health*, 17(7), 2337. <https://doi.org/10.3390/ijerph17072337>
- 37 Kollef, M. H., Sherman, G., Ward, S., & Fraser, V. J. (1999). Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest*, 115(2), 462–474. <https://doi.org/10.1378/chest.115.2.462>

- 38 Kumar, A., Ellis, P., Arabi, Y., Roberts, D., Light, B., Parrillo, J. E., Dodek, P., Wood, G., Kumar, A., Simon, D., Peters, C., Ahsan, M., Chateau, D., & Cooperative Antimicrobial Therapy of Septic Shock Database Research Group (2009). Initiation of inappropriate antimicrobial therapy results in a fivefold reduction of survival in human septic shock. *Chest*, 136(5), 1237–1248. <https://doi.org/10.1378/chest.09-0087>
- 39 Lambregts, M., Bernards, A. T., van der Beek, M. T., Visser, L. G., & de Boer, M. G. (2019). Time to positivity of blood cultures supports early re-evaluation of empiric broad-spectrum antimicrobial therapy. *PloS one*, 14(1), e0208819. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208819>
- 40 Lamy, B., Ferroni, A., Henning, C., Cattoen, C., & Laudat, P. (2018). How to: accreditation of blood cultures' proceedings. A clinical microbiology approach for adding value to patient care. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 24(9), 956–963. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.01.011>
- 41 Langemak, S. (2012, 13. September). Wenn das Blut vergiftet ist. *Welt online* https://www.welt.de/print/die_welt/wissen/article109184593/Wenn-das-Blut-vergiftet-ist.html (abgerufen am 05.07.2022, 10:31 Uhr)
- 42 Martínez, M. L., Plata-Menchaca, E. P., Ruiz-Rodríguez, J. C., & Ferrer, R. (2020). An approach to antibiotic treatment in patients with sepsis. *Journal of thoracic disease*, 12(3), 1007–1021. <https://doi.org/10.21037/jtd.2020.01.47>
- 43 Nguyen, M., Eschenauer, G. A., Bryan, M., O'Neil, K., Furuya, E. Y., Della-Latta, P., & Kubin, C. J. (2010). Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: factors correlated with clinical and microbiologic outcomes. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 67(2), 180–184. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2010.02.001>
- 44 Paterson D. L. (2004). "Collateral damage" from cephalosporin or quinolone antibiotic therapy. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 38 Suppl 4, S341–S345. <https://doi.org/10.1086/382690>
- 45 Paul, M., Shani, V., Muchtar, E., Kariv, G., Robenshtok, E., & Leibovici, L. (2010). Systematic review and meta-analysis of the efficacy of appropriate empiric antibiotic therapy for sepsis. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(11), 4851–4863. <https://doi.org/10.1128/AAC.00627-10>
- 46 Phua, J., Ngerng, W., See, K., Tay, C., Kiong, T., Lim, H., Chew, M., Yip, H., Tan, A., Khalizah, H., Capistrano, R., Lee, K., & Mukhopadhyay, A. (2013). Characteristics and outcomes of culture-negative versus culture-positive severe sepsis. *Critical care (London, England)*, 17(5), R202. <https://doi.org/10.1186/cc12896>
- 47 Pollack, L. A., van Santen, K. L., Weiner, L. M., Dudeck, M. A., Edwards, J. R., & Srinivasan, A. (2016). Antibiotic Stewardship Programs in U.S. Acute Care Hospitals: Findings From the 2014 National Healthcare Safety Network Annual Hospital Survey. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 63(4), 443–449. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw323>

- 48 Rand, K. H., Beal, S. G., Rivera, K., Allen, B., Payton, T., & Lipori, G. P. (2019). Hourly Effect of Pretreatment With IV Antibiotics on Blood Culture Positivity Rate in Emergency Department Patients. *Open forum infectious diseases*, 6(5), ofz179. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz179>
- 49 Reinhart K, Hartog CS. Biomarkers as a guide for antimicrobial therapy. *Int J Antimicrob Agents*. 2010 Dec;36 Suppl 2: S17-21. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2010.11.009. Epub 2010 Dec 3. PMID: 21129930.
- 50 Rello, J., Vidaur, L., Sandiumenge, A., Rodríguez, A., Gualis, B., Boque, C., & Diaz, E. (2004). De-escalation therapy in ventilator-associated pneumonia. *Critical care medicine*, 32(11), 2183–2190. <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000145997.10438.28>
- 51 Rönnerberg, C., Mildh, M., Ullberg, M., & Özenci, V. (2013). Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 76(3), 286–290. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.03.031>
- 52 Saito, T., Inuma, Y., Takakura, S., Nagao, M., Matsushima, A., Shirano, M., & Ichiyama, S. (2009). Delayed insertion of blood culture bottles into automated continuously monitoring blood culture systems increases the time from blood sample collection to the detection of microorganisms in bacteremic patients. *Journal of infection and chemotherapy: official journal of the Japan Society of Chemotherapy*, 15(1), 49–53. <https://doi.org/10.1007/s10156-008-0664-6>
- 53 Scheer, C. S., Fuchs, C., Gründling, M., Vollmer, M., Bast, J., Bohnert, J. A., Zimmermann, K., Hahnenkamp, K., Rehberg, S., & Kuhn, S. O. (2019). Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 25(3), 326–331. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2018.05.016>
- 54 Scheer, C. S., Fuchs, C., Kuhn, S. O., Vollmer, M., Rehberg, S., Friesecke, S., Abel, P., Balau, V., Bandt, C., Meissner, K., Hahnenkamp, K., & Gründling, M. (2017). Quality Improvement Initiative for Severe Sepsis and Septic Shock Reduces 90-Day Mortality: A 7.5-Year Observational Study. *Critical care medicine*, 45(2), 241–252. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000002069>
- 55 Scheer, C., Gründling, M., & Kuhn, S. O. (2022). Do not forget the blood cultures!. *Intensive care medicine*, 48(4), 509–510. <https://doi.org/10.1007/s00134-021-06612-x>
- 56 Schmitz, R. P., Keller, P. M., Baier, M., Hagel, S., Pletz, M. W., & Brunkhorst, F. M. (2013). Quality of blood culture testing - a survey in intensive care units and microbiological laboratories across four European countries. *Critical care (London, England)*, 17(5), R248. <https://doi.org/10.1186/cc13074>
- 57 Schwarzenbacher, J., Kuhn, S. O., Vollmer, M., Scheer, C., Fuchs, C., Rehberg, S., Balau, V., Hahnenkamp, K., Bohnert, J. A., & Gründling, M. (2019). On-site blood culture incubation shortens the time to knowledge of positivity and microbiological results in septic patients. *PloS one*, 14(12), e0225999. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999>

- 58 Schwarzenbacher, J., Scheer, C., Fuchs, C., Vollmer, M., Balau, V., Kuhn, S.-O., Hahnenkamp, K., & Gründling, M. (2015). Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly. *Infection* 43:S41
- 59 Schwarzenbacher, J., Vollmer, M., Gerber, M., Guderian, L., Scheer, C., Balau, V., & Gründling, M. (2014, December 03-05) Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock – eine Zeitanalyse (Posterpräsentation). DIVI 2014, Congress Center Hamburg, Deutschland
- 60 Souvenir, D., Anderson, D. E., Jr, Palpant, S., Mroch, H., Askin, S., Anderson, J., Claridge, J., Eiland, J., Malone, C., Garrison, M. W., Watson, P., & Campbell, D. M. (1998). Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudobacteremia, and therapy of patients. *Journal of clinical microbiology*, 36(7), 1923–1926.
<https://doi.org/10.1128/JCM.36.7.1923-1926.1998>
- 61 Tabak, Y. P., Vankeepuram, L., Ye, G., Jeffers, K., Gupta, V., & Murray, P. R. (2018). Blood Culture Turnaround Time in U.S. Acute Care Hospitals and Implications for Laboratory Process Optimization. *Journal of clinical microbiology*, 56(12), e00500-18.
<https://doi.org/10.1128/JCM.00500-18>
- 62 The Society of Critical Care Medicine and the European Society of Intensive Care Medicine. (2019, 11. Januar). Hour – 1 Bundle Initial Resuscitation for Sepsis and Septic Shock. Surviving Sepsis Campaign.
<https://www.sccm.org/getattachment/SurvivingSepsisCampaign/Guidelines/Adult-Patients/Surviving-Sepsis-Campaign-Hour-1-Bundle.pdf?lang=en-US> (abgerufen am 07.05.2022, 16:20 Uhr)
- 63 Uhle, F., Lichtenstern, C., Brenner, T., & Weigand, M. A. (2015). Sepsis und Multiorganversagen - Pathophysiologie der Sepsis [Pathophysiology of sepsis]. *Anesthesiologie, Intensivmedizin, Notfallmedizin, Schmerztherapie: AINS*, 50(2), 114–122.
<https://doi.org/10.1055/s-0041-100391>
- 64 Venturelli, C., Righi, E., Borsari, L., Aggazzotti, G., Busani, S., Mussini, C., Rumpianesi, F., Rossolini, G. M., & Girardis, M. (2017). Impact of Pre-Analytical Time on the Recovery of Pathogens from Blood Cultures: Results from a Large Retrospective Survey. *PloS one*, 12(1), e0169466. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169466>
- 65 Walkey, A. J., Lagu, T., & Lindenauer, P. K. (2015). Trends in sepsis and infection sources in the United States. A population-based study. *Annals of the American Thoracic Society*, 12(2), 216–220. <https://doi.org/10.1513/AnnalsATS.201411-498BC>
- 66 Weinstein M. P. (2003). Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *Journal of clinical microbiology*, 41(6), 2275–2278.
<https://doi.org/10.1128/JCM.41.6.2275-2278.2003>
- 67 Weinstein, M. P., Towns, M. L., Quartey, S. M., Mirrett, S., Reimer, L. G., Parmigiani, G., & Reller, L. B. (1997). The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clinical infectious diseases: an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 24(4), 584–602.
<https://doi.org/10.1093/clind/24.4.584>

8.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Hour-1 Bundle als Strategieleitfaden adaptiert von sscm.org [62]

Abb. 2: Schematische Darstellung der Abläufe der Blutkulturdiagnostik im Vergleich.

Abb. 3: Durchschnittliche Transportzeit für Blutkulturen der ITS zum Labor, aus Posterpublikation für DIVI 2014 [59]

Abb. 4: Flussdiagramm über eingeschlossene Blutkultursets aus Schwarzenbacher et al. [57]

Abb. 5: Anteil der patientenbereinigten Erregernachweise am Gesamterregerspektrum

8.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Definitionskriterien SIRS, Organdysfunktion, Schock im Rahmen der Sepsis-2 Definition

Tab. 2: Durchlaufzeiten von Blutkultursets aus Schwarzenbacher et al. [57]

Tab. 3: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für TTR aus Schwarzenbacher et al. [57]

Tab. 4: Patientencharakteristik zum Zeitpunkt der Blutabnahme

8.4 Abkürzungsverzeichnis

%	Prozent
° C	Grad Celsius
a	Jahr, Jahre
Abb.	Abbildung
BK	Blutkultur
CI	Konfidenzintervall
d	Tag, Tage
DIVI	Kongress der Deutschen Interdisziplinären Vereinigung für Intensiv- und Notfallmedizin
E. coli	Escherichia coli
Fig	Figure, Abbildung
FiO ₂	inspiratorische Sauerstofffraktion
h	Stunde
ICU	Intensive Care Unit
IQR	Interquartilerange, Interquartilsabstand
IT	Informationstechnologie
ITS	Intensivstation
kg	Kilogramm
KG	Körpergewicht
km	Kilometer
KNS	Koagulase negative Staphylokokken
l	Liter
LAB	Laboratory
MALDI-TOF	Mass Spectrometry for Microorganism Identification
min	Minute
mind.	mindestens
ml	Milliliter
mm	Millimeter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
mmol	Millimol
n	Anzahl
O ₂	Sauerstoff
PaCO ₂	Kohlenstoffdioxidpartialdruck
PaO ₂	Sauerstoffpartialdruck im
PCT	Procalcitonin
PRR	Pattern Recognition Rezeptor
SIRS	systemic inflammatory response syndrome, allgemeines Entzündungssyndrom
SSC	Surviving Sepsis Campaign
Staph. Aureus	Staphylococcus aureus
Tab.	Tabelle
TTI	Time to Incubation, Zeit Blutkulturentnahme bis Inkubationsbeginn
TTK	Time to Knowledge, Zeit Blutkulturentnahme bis Wissen um Positivität
TTP	Time to Positivity, Zeit Blutkulturentnahme bis Wachstumssignal
TTR	Time to Result, Zeit Blutkulturentnahme bis mikrobiologischer Endbefund
vgl.	vergleiche
z.B.	zum Beispiel

9 Anlagen

9.1 Posterpublikation „Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischen



Blutkulturen bei Patienten mit schwerer Sepsis und septischem Schock – eine Zeitanalyse

Schwarzenbacher J¹, Vollmer M², Gerber M¹, Guderian L¹, Scheer C¹, Balau V³, Gründling M¹

¹Klinik und Poliklinik für Anästhesiologie und Intensivmedizin, Universitätsmedizin Greifswald

²Institut für Mathematik und Informatik, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald

³Friedrich-Löffler Institut für medizinische Mikrobiologie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald



Einleitung

Für den Therapieerfolg bei Patienten mit Sepsis ist eine schnelle und adäquate antimikrobielle Therapie mit vorheriger Blutkulturdiagnostik laut Leitlinie empfohlen.

Ziele

In der vorliegenden Studie untersuchten wir die Zeiten von der Blutkulturabnahme auf einer Intensivstation bis zur Übermittlung des mikrobiologischen Endbefundes der Kulturen an einem Universitätsklinikum mit peripherem Labor, um anschließend die Blutkulturdiagnostik hinsichtlich des Zeitmanagements zu optimieren.

Methoden

Es wurden die Daten von 421 Patienten mit einer schweren Sepsis oder einem septischen Schock einer operativen Intensivstation im Zeitraum von 2010-2013 retrospektiv analysiert. Die Blutkulturen mussten mittels Fahrzeugtransport in das 3km entfernte mikrobiologische Labor ohne permanente Besetzung geschickt werden. Aus dem Laborinformationssystem Swisslab wurden die Zeiten für die Entnahme der Kultur, den Eingang im Labor, die Wachstumsdetektion, die in Teilen erfolgte telefonische Befundmitteilung an den behandelnden Arzt und die Endbefundung erfasst und ausgewertet.

Für die Analyse wurden die Blutkulturen unterteilt in:

- Abnahme während der Laboröffnungszeiten bis einschließlich eine Stunde vor Öffnung
- Abnahme außerhalb der Laboröffnungszeiten (Transporte auf telefonische Bestellung möglich)

Zusätzlich erfolgte eine Unterteilung nach Wochentagen (Mo-Do, Fr, Sa, So)

Die Berechnungen wurden mittels Microsoft Excel 2010 für Windows, RStudio und MATLAB R2013a durchgeführt.

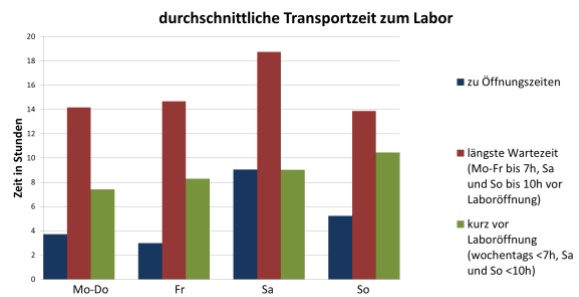
Ergebnisse

Für 457 von den 2910 abgenommenen Blutkultursets war der Datensatz vollständig und es fand sich ein positives Bakterienwachstum (22,6%). Die Phase von der Blutkulturentnahme bis zum Bebrütungsbeginn (Transportzeit und Erfassungszeit) dauerte im Median 7,85 Stunden. Werden nur die 280 Blutkulturen mit Entnahmezeiten außerhalb der Öffnungszeiten betrachtet, liegt die mediane Transportzeit bei 11,85 Stunden. Die mediane Bebrütungszeit belief sich auf 16,67 Stunden. In 319 Fällen ergab die mikrobiologische Analyse einen für den Patienten bisher unbekanntem Keim. Darüber wurden die Ärzte in 80% telefonisch informiert. 54% der Anrufe blieben ohne Reaktion der Kliniker auf das Ergebnis, obwohl bei mehr als jedem fünften Patienten die empirische Antibiose nicht wirksam war (22%).

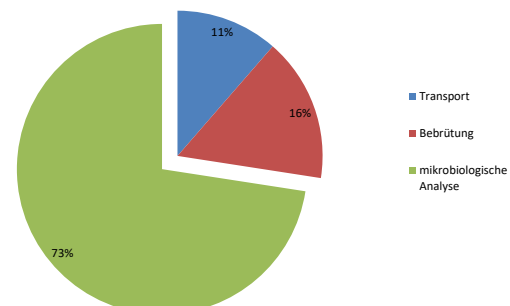
Schlussfolgerungen

Da das Outcome der Sepsispatienten wesentlich von einer schnellen, adäquaten antiinfektiven Therapie abhängt, muss die Transportzeit minimiert und durch Personalschulung dafür gesorgt werden, dass nicht adäquate antiinfektive Therapien frühzeitig geändert werden. Da außerhalb der Laborzeiten die Zeit bis zur Bearbeitung der Blutkultur signifikant länger ist, kann alternativ die Bebrütung am Abnahmeort in einem an das Laborsystem angeschlossenen Automaten (z.B. BACTEC) oder in einem permanent besetzten Labor erfolgen. Ob dieses Vorgehen zu einer schnelleren Bearbeitung und zu einer verbesserten Behandlungsqualität führt, muss prospektiv untersucht werden.

Wochentag	Laboröffnungszeiten	Transportintervall
Montag-Freitag	7-16Uhr	1-2 stündlich
Samstag	8-11Uhr	
Sonntag	8-10Uhr	



Zeitverteilung bis zum Endbefund außerhalb der Laboröffnungszeiten



Diskussion

Diese Analyse zeigt, dass in der Regelarbeitszeit 7,5% und 11,4% der gesamten Zeit der Blutkulturdiagnostik für den Transport und die anfallen. Bei einem ausgelagerten mikrobiologischem Labor dürfte dieser Anteil noch größer sein. Die gefundene Verzögerung durch den Transport deckt sich mit Resultaten aus anderen Untersuchungen. Dabei sollte diese laut Empfehlungen nicht mehr als 2 bis 4 Stunden betragen, um eine optimale Therapie zu gewährleisten.

9.2 Posterpublikation und Abstract „Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly“ – Weimar Sepsis Update 2015



Bedside fluorescence based blood culture incubation shortens time to positivity significantly

Schwarzenbacher J¹, Scheer C¹, Fuchs C¹, Vollmer M², Balau V³, Kuhn SO¹, Hahnenkamp K¹, Gründling M¹

¹Department of Anesthesiology and Intensive Care Medicine, University Hospital Greifswald, Germany

²Department of Mathematics and Computer Science, University of Greifswald, Germany

³Friedrich Loeffler Institute of Medical Microbiology, Greifswald, Germany

111

Introduction

The success of sepsis therapy depends largely on an early and effective anti-infective treatment. Antimicrobial susceptibility results support clinicians in the decision-making process of choosing the most effective anti-infective therapy and thereby optimizing septic treatment. Rönneberg et al. were able to show that the time to positivity was significantly shorter for blood cultures with a shorter transportation time to a laboratory [Rönneberg et al. (2013), in: *Diagn Microbiol Infect Dis* 76].

Objectives

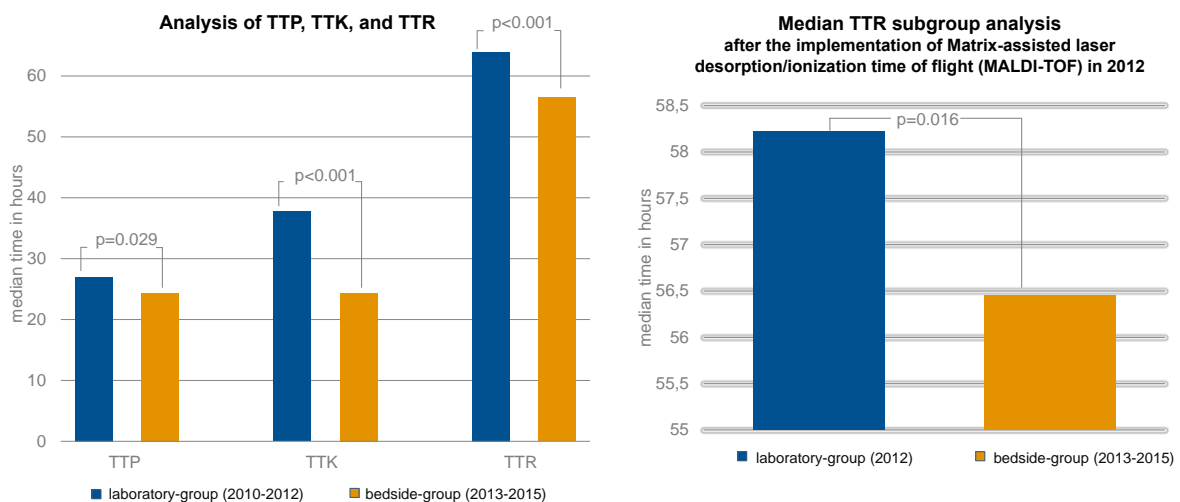
To investigate the impact of an on-site blood culture incubation system in contrast to incubation in an external laboratory on time to positivity (TTP) and time to first antimicrobial susceptibility results (TTR).

Methods

In a retrospective analysis we compared blood cultures which were incubated and analyzed in an external microbiological laboratory (2010-2012) to blood cultures that were incubated on site, close to the patient directly at an intensive care unit (ICU) (2013-2015). Blood cultures were incubated in an automated continuous monitoring blood culture system for 6 days. When organism growth was detected by fluorescence, an alarm sound signaled a positive blood culture. Only positive blood cultures were transported to the external microbiological laboratory for further processing and analysis. Blood cultures which remained in the incubator for 6 days without growth-detection were classified negative and were discarded. **Time to positivity (TTP)**, **time to knowledge of positivity (TTK)**, and **time to first available antimicrobial susceptibility results (TTR)** were analyzed separately for the 'laboratory-group' and for the 'bedside-group'.

Results

In the laboratory-group (421 septic patients) 457 blood culture sets of a total of 2910 sets were culture positive (22.6 %) and complete for all surveyed data while in the bedside-group (521 ICU patients) 269 of 2873 sets were culture positive (9.36 %) and analyzed in the same way. The median TTP was 27 h (IQR 25.3 h) in the laboratory-group versus 24.3 h (IQR 24.2 h) in the bedside-group, $p=0.029$. Clinicians obtained the information of culture positivity (TTK) after a median time of 37.7 h (IQR 29.2 h) in the laboratory-group, $p<0.001$. TTR was 64 h (IQR 38.8 h) for the laboratory-group and 56.5 h (IQR 33.1 h) for the bedside-group, $p<0.001$. Both groups showed comparable withdrawal times.



Conclusion

Our analysis shows a benefit of blood culture incubation close to the patient to provide an optimized anti-infective treatment in septic patients. TTP, TTK and TTR were significantly decreased by incubating blood cultures directly at the ICU compared to incubation in an external laboratory. Installing an on-site incubation system is elaborate and cost-intensive. Potential improvement in patient outcome and usage of anti-infective treatment must be taken into consideration before refusing this therapy approach for its costs.

Patient-side automated blood culture incubation shortens the time to positivity significantly

Schwarzenbacher J., Scheer C., Fuchs C., Vollmer M., Balau V., Kuhn S.-O., Hahnenkamp K., Gründling M.

Introduction: The success of sepsis therapy depends largely on an early and effective antiinfective treatment. Antimicrobial susceptibility results support clinicians in the decision-making process of choosing the most effective antiinfective therapy and thereby optimizing septic treatment. Rönnerberg et al. were able to show that the time to positivity was significantly shorter for blood cultures with a shorter transportation time to a laboratory [Rönnerberg et al. (2013): Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. In: *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 76, S. 286–290].

Objectives: To investigate the impact of an on-site blood culture incubation system in contrast to incubation in an external laboratory on time to positivity (TTP) and time to first antimicrobial susceptibility results (TTR).

Methods: In a retrospective analysis we compared blood cultures which were incubated and analyzed in an external microbiological laboratory (2010–2012) to blood cultures that were incubated on site, close to the patient directly at an intensive care unit (ICU) (2013–2015). Blood cultures were incubated in an automated continuous monitoring blood culture system for 6 days. When organism growth was detected by fluorescence, an alarm sound signaled a positive blood culture. Only positive blood cultures were transported to the external microbiological laboratory for further processing and analysis. Blood cultures which remained in the incubator for 6 days without growth detection were classified negative and were discarded. Time to positivity (TTP) and time to first available antimicrobial susceptibility results (TTR) were analyzed separately for the ‘laboratory-group’ and for the ‘close-to-patient-group’.

Results: In the laboratory-group (421 septic patients) 457 blood culture sets of a total of 2910 sets were culture positive (22.6 %) and complete for all surveyed data while in the close-to-patient-group (521 ICU patients) 269 of 2873 sets were culture positive (9.36 %) and analyzed in the same way.

The median TTP was 27 h (IQR 25.3 h) in the laboratory-group versus 24.3 h (IQR 24.2 h) in the close-to-patient-group, $p = 0.029$. Clinicians obtained the first antimicrobial susceptibility results after a median time of 61.4 h (IQR 3.3 h) in the laboratory-group and 39.2 h (IQR 41.1 h) in the close-to-patient-group, $p < 0.001$. Both groups had comparable withdrawal times.

Conclusions: Our analysis shows a benefit of blood culture incubation close the patient to provide an optimized antiinfective treatment to septic patients. Both TTP and TTR were significantly decreased by incubating blood cultures at the ICU compared to incubation at an external laboratory.

**9.3 Wissenschaftlicher Artikel „On-site blood culture incubation shortens the time to knowledge of positivity and microbiological results in septic patients“ –
Schwarzenbacher J., Kuhn S.-O., Vollmer M., Scheer C., Fuchs C., Rehberg S.,
Balau V., Hahnenkamp K., Bohnert J., Gründling M.**

Abstract

Introduction

To determine whether on-site incubation of blood cultures at the intensive care unit (ICU) improves not only the time to incubation but also time to positivity, time to knowledge of positivity and time to results (identification and antibiotic susceptibility testing).

Methods

This observational single-centre study in ICU patients with severe sepsis and septic shock investigated the impact of blood culture incubation immediately on-site at the ICU (ICU group) by comparison with traditional processing in a remote laboratory (LAB group) on different time intervals of blood culture diagnostics from obtaining blood to clinician notification of final result. The effect of on-site incubation was evaluated in Kaplan-Meier estimates for the time to positivity, time to knowledge of positivity and time to microbiological results and a linear mixed model was built.

Results

A total of 3,549 blood culture sets from 657 ICU patients were analysed: 2,381 in the LAB group and 1,168 in the ICU group. Overall, 660 (18.6%) blood culture sets were positive and 2,889 (81.4%) sets remained negative. On-site incubation was associated with reduced time to knowledge of positivity (46.9 h [CI 43.4–50.8 h] vs. 28.0 h [CI 23.6–32.2 h], $p < 0.001$) and reduced time to result (61.4 h [CI 58.4–64.8 h] vs. 42.1 h [CI 39.1–47.5 h], $p < 0.001$). In blood cultures processed instantaneously at the ICU compared to incubation in the remote laboratory within 4 h, the time to microbiological result was significantly reduced by 8.5 h ($p < 0.001$). Preexisting anti-infective therapy had no significant impact on diagnostic time intervals.

Conclusions

Instantaneous incubation of blood cultures in the ICU compared to incubation in a remote laboratory significantly improves time to knowledge to positivity and time to result. These effects are even more pronounced during off-hours of the microbiological laboratory. The results underline the importance of 24/7 diagnostics to provide round-the-clock processing of blood culture samples in patients with sepsis and septic shock and an immediate to communication of the results to the clinicians.

Introduction

An adequate and early anti-infective therapy is crucial to improve the outcome of critically ill patients with sepsis and septic shock. Previous clinical data have shown an inappropriate or superfluous empirical antibiotic therapy in up to 40%, and up to 70% with fungemia before definitive identification of the pathogens detected [1–3]. Despite the low rate of positive pathogen detection in only up to 30% of the cases [4–8], blood cultures still represent the gold standard to diagnose bloodstream infections [9]. The current Surviving Sepsis Campaign guidelines recommend “that blood cultures be obtained prior to initiating antimicrobial therapy if cultures can be obtained in a timely manner” and subsequent incubation within 4 h after diagnosis [10]. Every hour of delayed incubation results in a decreased probability of culture positivity [11]. Recent studies have demonstrated an association of delayed antimicrobial administration with increased progression of sepsis to septic shock and increased mortality [12,13]. Unfortunately, the processing is time-consuming and typically takes 48–72 h for final results. However, even the knowledge of positivity of blood cultures without any specification of pathogens can already trigger the initiation of calculated anti-infective treatment. Results published by Prado et al. state that time to positivity of blood cultures are eligible for antibiotic de-escalation at 48 h [14]. Following definite pathogen identification and availability of its antimicrobial susceptibility, therapy can be specified, de-escalated or discontinued, respectively. De-escalation has been reported to be associated with improved outcome [15].

Because sepsis is a medical emergency, the reduction of time from taking blood cultures to final results is also a critical task of the microbiology laboratory to provide blood culture results as early as possible. However, only 20% of the microbiological laboratories in Europe offer a round-the-clock service. In Germany, on-site incubation takes 2 h, whereas the incubation in remote laboratories was delayed by at least 8 hours in more than 60% of all blood cultures [16].

Our objective is the comparison of immediate on-site blood culture incubation at the intensive care unit (ICU) with off-site blood culture incubation at a remote microbiological laboratory in patients with confirmed sepsis and septic shock to test the hypothesis that incubation immediately after obtaining blood cultures improves the time to incubation, time to positivity, time to clinician notification of positive results, time to knowledge of positivity and time to microbiological results, including pathogen identification and susceptibility testing.

Materials and methods

Ethical approval

The proposed clinical study was reviewed by the Ethics Committee of the University Medicine Greifswald (Identifier: BB 026/16). The Ethics Committee concluded that there are no ethical and legal reservations to perform the study according to the German Law. Therefore, the Ethics Committee grants approval for the proposed clinical study.

Study design

In this observational single-centre study, ICU patients with severe sepsis and septic shock were analysed to study the impact of on-site incubation of blood cultures instantaneously at the ICU compared to off-site incubation at the following time intervals:

Time to blood culture incubation (TTI): time from taking blood culture to start of incubation,

Time to blood culture positivity (TTP): time from taking blood culture to positive growth signal,

Time to knowledge of positivity (TTK): time from taking blood culture to time to notification of the attending physician about blood culture positivity, and

Time to microbiological result (TTR): time from taking blood culture to the first available microbiological results, including pathogen identification and preliminary susceptibility results.

Clinical setting

The study was conducted at the interdisciplinary 27-bed ICU at Greifswald University Hospital, Germany. We included blood cultures from patients with confirmed severe sepsis or septic shock [17] according to the American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference (ACCP/SCCM) criteria [18] (Fig 1). Blood cultures were initially analysed in a remote microbiology laboratory connected to the ICU (LAB group) between January 2010 and December 2012. From September 2013 to December 2015, blood cultures were incubated immediately at the ICU within 1 hour (ICU group). Operating procedures for the incubator were validated, and the ICU staff was trained between the trial periods to load cultures 24/7. All blood culture sets are comprised of one aerobic and one anaerobic bottle (BACTECTTMPlus Aerobic/F and BACTECTTMPlus Anaerobic/F Culture Vials), which were incubated in BD BACTEC FX incubators (Becton-Dickinson USA) until cultures detected positive or for at least six days.

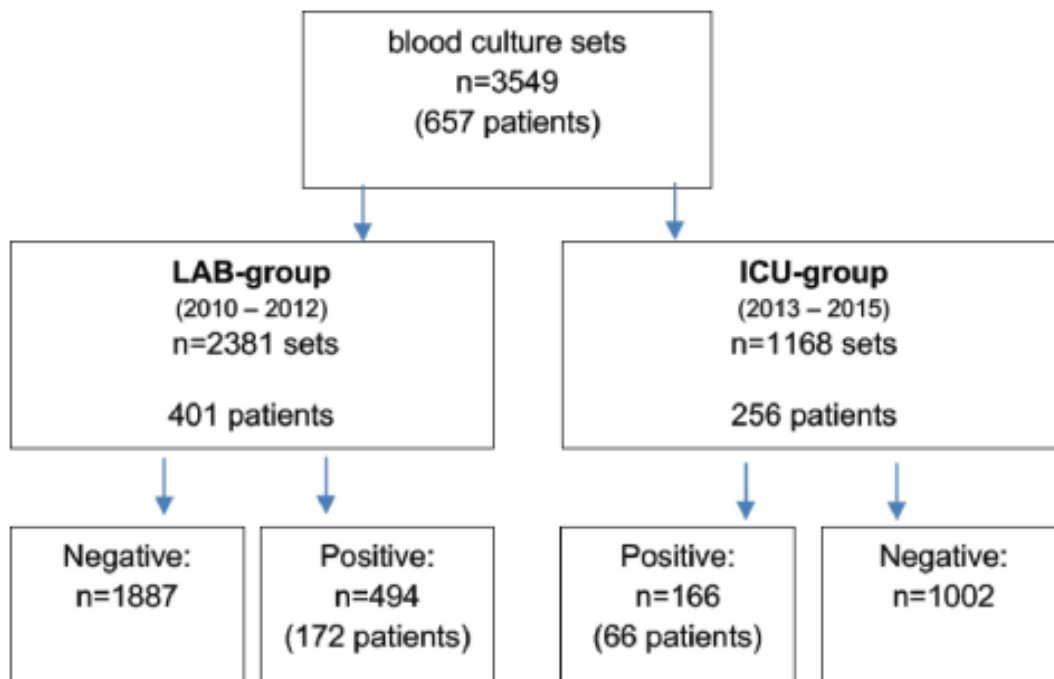


Fig 1. Flow chart of blood culture sets included. Blood cultures (n) were either incubated at the remote microbiology laboratory (LAB group) or incubated on-site at the intensive care unit (ICU group).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.g001>

The microbiological laboratory where the diagnostic was performed was located 4 km away from the ICU in another building of the hospital. All blood culture bottles in the LAB group were submitted by car. The opening hours of the laboratory for routine processing were weekdays 7 am to 6 pm, Saturdays 7 am to 1 pm and Sundays and holidays 7 am to 12 noon,

respectively. Routine blood culture deliveries were made during laboratory opening hours. In the case of transportation-related delays, blood cultures were stored at room temperature.

In the ICU group, blood cultures were incubated immediately after obtaining, directly at the ICU throughout the day. Positivity was alerted by an acoustic alarm. Positive blood culture bottles transported to the laboratory for Gram-stain and further analysis remained limited to the operating hours of the remote laboratory. In the case of positivity during the off-hours of the laboratory, cultures remained incubated until the next transport was available.

Positive cultures were Gram-stained, streaked onto Columbia sheep blood agar, chocolate agar, MacConkey lactose agar and Schaedler agar (Becton-Dickinson USA) for overnight incubation at 37°C. Species identification was then carried out using matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) on a VITEK®MS device (bioMérieux, France) and susceptibility testing was performed using the VITEK®2 device (bioMérieux, France). The microbiologist on duty confirmed microbial growth according to Gram-stain by telephone call. If Gram-stain did not confirm bacterial growth, blood cultures were further incubated in the laboratory and Gram-stains were repeated daily. Final results were transmitted electronically and rendered for each blood culture set, including the results of the aerobic and anaerobic bottle. Therefore, our analysis focuses on blood culture sets and not on individual bottles.

Statistical analysis

Statistical analysis was performed using R (R Foundation for Statistical Computing, R version 3.4.4; <http://www.R-project.org>). Baseline characteristics of patients and blood cultures were summarized in terms of means with standard deviation and in terms of quantity and proportion. Group comparisons were conducted by the two-tailed Welch's t-test, Fisher's exact test and Chi-Squared test accordingly.

Variations in processing durations were summarized and presented by the restricted means with 95% confidence intervals (CI). Group comparison was performed by time-to-event analysis. Consequently, we split the LAB group into three subgroups depending on the TTI (incubation groups: $TTI \leq 4$ h, 4 h $< TTI \leq 8$ h, $TTI > 8$ h) to study the effect of delayed incubation in the same cohort. We identified censored data in the TTK when no telephone call was made due to strains in the patient which already known. The TTK is, therefore, considered right-censored and the duration was considered to be at least TTP plus the time to the next business hour of the laboratory. The Kaplan-Meier estimator was used to estimate the time to event functions and logrank tests were used for comparison.

Because of non-proportional hazards and the quasi-normally distributed TTR, we decided to build a linear mixed model rather than a Cox regression model to explain the TTR by independent features, such as the incubation group, TTP, existing anti-infectives at sampling, and whether the microbiology was open at the time of growth detection.

Results

A total of 3,549 blood culture sets from 657 sepsis patients (401 in the LAB group, 256 in the ICU group) were processed: 2,381 sets in the LAB group and 1,168 sets in the ICU group. Baseline patient characteristics for both groups in patients with positive blood cultures are tabulated in Table 1.

Overall, 660 (18.6%) blood cultures had positive results: 494 (172 patients) in the LAB group and 166 (66 patients) in the ICU group. The positivity rate was higher in the LAB group (20.7% vs. 14.2%, $p < 0.001$) (Table 1). Contamination was found in 38 cases (27 in the LAB group, 11 in the ICU group). We found no significant differences in the contamination rates and pathogen distribution. However, we found more multimicrobial blood cultures in the LAB group (15.5% vs. 4.6%, $p = 0.02$) (Table 2).

Table 1. Baseline characteristics of sepsis patients with positive blood cultures processed either in the laboratory (LAB group) or at the ICU (ICU group).

Patients	LAB group n = 172	ICU group n = 66	P value
Age in years, mean \pm SD	65.7 \pm 12.5	68.7 \pm 11.4	0.080
Severe sepsis ¹ , # (%)	30 (17.4%)	17 (25.8%)	0.151
Septic shock ² , # (%)	142 (82.6%)	49 (74.2%)	
Abdominal infection, # (%)	67 (39.0%)	29 (43.9%)	0.828
Respiratory site infection, # (%)	34 (19.8%)	10 (15.2%)	
Other focus, # (%)	62 (36.0%)	24 (36.4%)	
Unknown focus, # (%)	9 (5.2%)	3 (4.5%)	
Blood cultures	LAB group n = 2381	ICU group n = 1168	
Blood culture sets with growth detection, # (%)	494 (20.7%)	166 (14.2%)	<0.001
Anti-infective treatment prior to sampling in blood culture sets with growth detection, # (%)	351 (71.1%)	115 (69.3%)	0.694

SD = standard deviation.

¹ patients diagnosed with severe sepsis (suspected or present infection plus at least two of the following: heart rate > 90 beats per minute, respiratory rate >20 per minute, white blood cell count $<4000/\text{mm}^3$ or $>12000/\text{mm}^3$ or $> 10\%$ banded neutrophils, temperature < 36 or $> 38^\circ\text{C}$).

² patients diagnosed with septic shock (fulfilling criteria of severe sepsis plus signs of organ dysfunction).

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t001>

Table 2. Distribution of pathogen isolates of blood cultures processed either in the laboratory or at the ICU.

Sets collected within 24 hours were combined	LAB group n = 227	ICU group n = 76	P-value
Contaminated sets*, # (%)	27 (11.9%)	11 (14.5%)	0.552
In non-contaminated sets	n = 200	n = 65	
Gram positive, # (%)	125 (62.5%)	38 (58.5%)	0.561
Gram negative, # (%)	56 (28.0%)	14 (21.5%)	0.335
Anaerobic pathogens, # (%)	5 (2.5%)	4 (6.2%)	0.229
Fungi, # (%)	25 (12.5%)	6 (9.2%)	0.657
In non-contaminated sets			
Multimicrobial, # (%)	31 (15.5%)	3 (4.6%)	0.020
Multiresistant pathogens, # (%)	12 (6.0%)	7 (10.8%)	0.265
Reactive, # (%)	8 (4.0%)	5 (7.7%)	0.317

* contamination: Single detection of coagulase-negative *staphylococci* or *propionibacterium acne* in all sets collected within 24 h.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t002>

The overall distribution of samplings during weekdays compared to weekends/holidays and the TTI in relation to the time of sampling of the LAB group, showing an expected circadian distribution is illustrated in Fig 2.

Fig 3 shows the overall distribution of sampling time in relation to the time of growth detection in both groups. The magenta dots (highest number of blood cultures) represent

samplings with the largest delay between growth detection and further processing because these blood cultures flagged positive during the off-hours of the laboratory. Blood cultures obtained and flagged positive during laboratory opening hours show the most apparent time advantage (marked as green dots).

In the LAB group, 173 blood cultures (35.0%) were incubated within 4 h, and 256 (51.8%) were incubated within 8 h, while all blood cultures in the ICU group were incubated within 1 h (Table 3). Because of the blood transportation, only 13 (2.6%) blood cultures in the LAB group were incubated within 1 h.

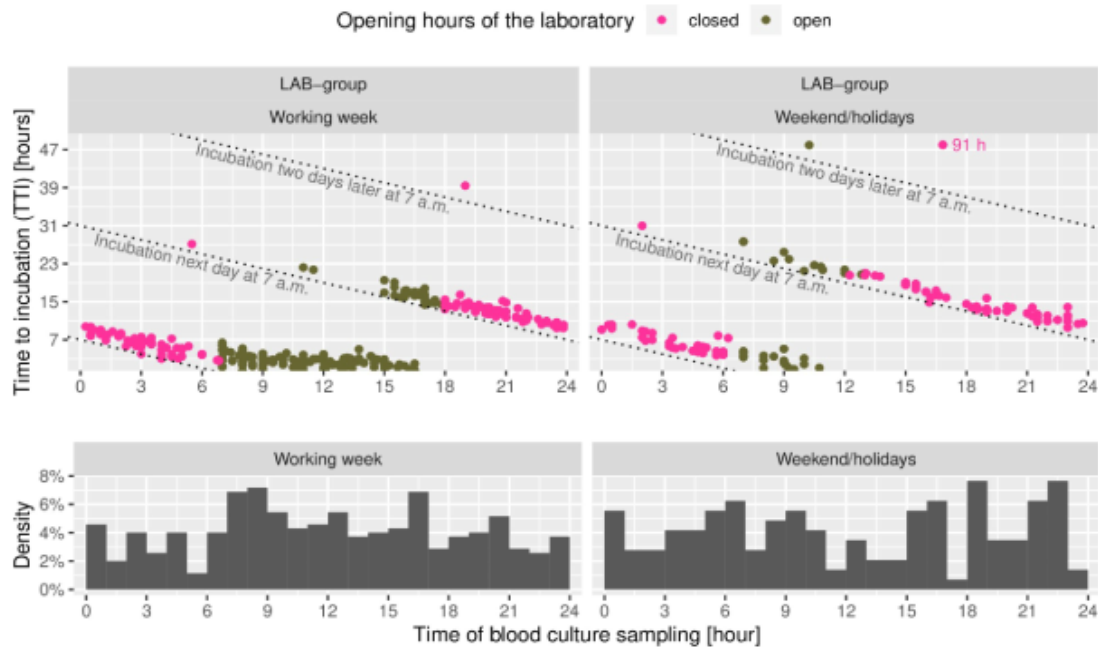


Fig 2. Time to incubation related to time of blood culture sampling (LAB group). Top: Magenta dots represent sampling during laboratory off-hours, green dots during working hours. Bottom: Overall distribution of sampling during working week and on weekends/holidays.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.g002>

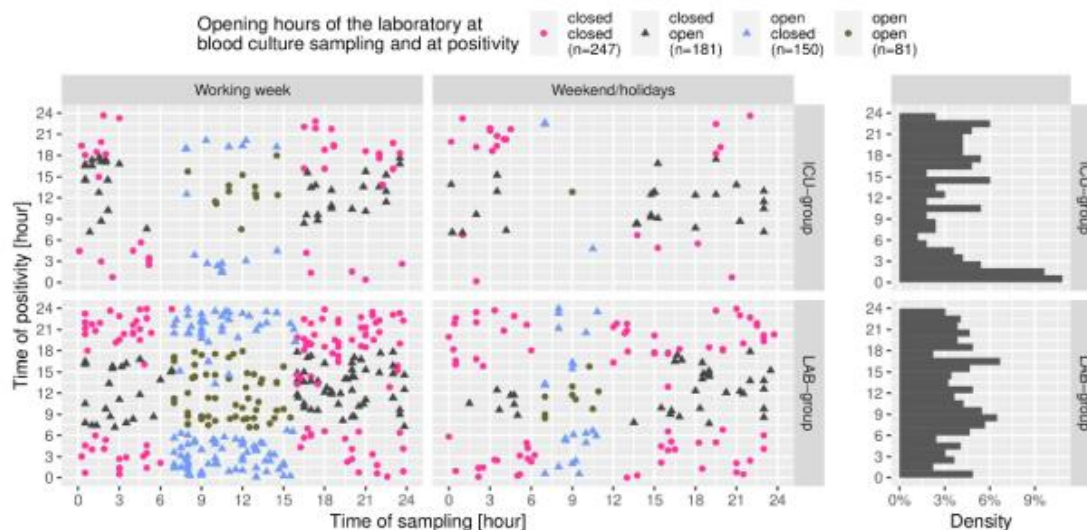


Fig 3. Overall distribution of sampling time vs. positivity time of blood cultures (LAB group and ICU group). Green dots represent sampling and positivity during laboratory opening hours. Blue triangles represent sampling during laboratory opening hours and positivity off-hours. Dark-grey triangles represent sampling during laboratory off-hours and positivity during opening hours. Magenta dots represent sampling and positivity during laboratory off-hours.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.g003>

Table 3. Processing time of blood cultures processed in the laboratory and at the ICU.

	LAB group (n = 494)			ICU group (n = 166)	P-value***
	TTI ≤ 4 h (n = 173)	4 h < TTI ≤ 8 h (n = 83)	TTI > 8 h (n = 237**)		
Time to positivity (TTP), mean* (CI)	20.8 (19.1–22.9)	22.4 (20.9–24.7)	30.6 (27.9–34.0)	28.0 (23.6–32.2)	<0.001
Time to knowledge of positivity (TTK), mean* (CI)	44.7 (29.3–49.8)	36.0 (32.6–54.0)	47.8 (43.9–65.0)	28.0 (23.6–32.2)	<0.001
Time to first antimicrobial susceptibility results (TTR), mean* (CI)	50.6 (49.3–51.7)	57.5 (54.8–76.2)	65.3 (62.8–67.0)	42.1 (39.1–47.5)	0.005

* restricted mean duration in hours with 95% confidence interval.

** 1 observation deleted due to missing data.

*** P-value of logrank test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t003>

Moreover, TTK and TTR differed significantly between the groups, as shown in Table 3. On-site incubation (ICU group) was associated with a reduced TTK (46.9 h [CI 43.4–50.8 h] vs. 28.0 h [CI 23.6–32.2 h], $p < 0.001$) and a reduced TTR (61.4 h [CI 58.4–64.8 h] vs. 42.1 h [CI 39.1–47.5 h], $p < 0.001$). These effects were even more pronounced within the first 48 h (Fig 4). Finally, TTR was also still significantly shorter (8.5 h, $p < 0.001$) when sampling was processed directly at the ICU compared to instantaneous incubation in the laboratory ($TTI \leq 4$ h), as suggested by the linear mixed model (Table 4). Additionally, logrank testing revealed that the TTP was significantly different in the ICU group compared to the entire LAB group ($p = 0.03$). Furthermore, splitting the LAB group into subgroups, we observed significantly prolonged TTP in bottles that were incubated beyond 8 hours ($p < 0.001$, cf. Table 3). It is noteworthy that there was no significant difference in TTR regarding pre-existing anti-infective therapy in the multivariable-adjusted regression model.

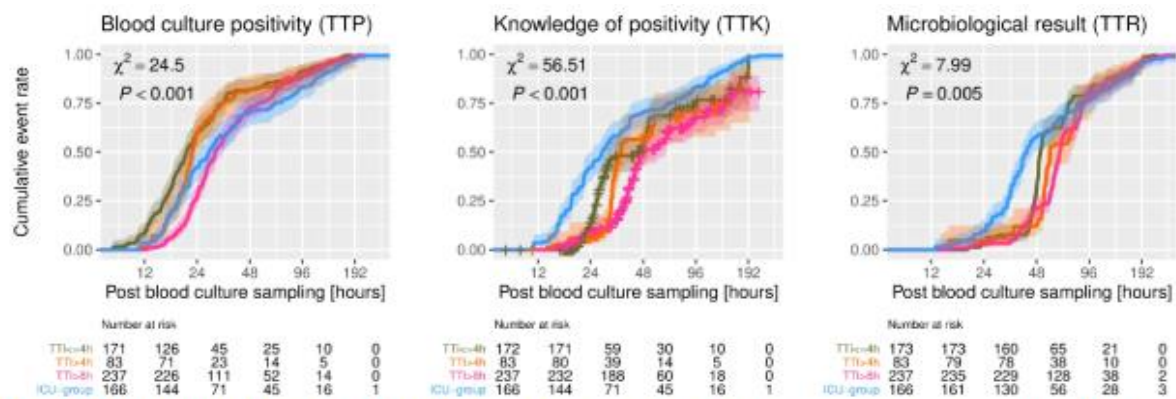


Fig 4. Kaplan-Meier estimates for TTP, TTK, and TTR. Cumulative event rates on logarithmic scale with 95% confidence bands (LAB group split according to TTI) with logrank test results.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.g004>

Table 4. Results of the linear mixed model for TTR. Each row lists the estimated, multivariable adjusted impact on the TTR. Estimates in hours are given for each predictor with standard error and p-value.

	Estimate (hours)	Standard error	P-value
(Intercept)	38.82	2.45	< 0.001
LAB group (TTI ≤ 4h)	(reference)		
LAB group (4h < TTI ≤ 8 h)	1.93	3.57	0.589
LAB group (TTI > 8 h)	-0.82	2.69	0.762
ICU group	-15.18	2.96	< 0.001
Microbiology open at growth detection	-11.44	2.16	< 0.001
No anti-infective therapy at sampling	-0.55	2.32	0.813
Time to positivity (TTP)	1.02	0.03	< 0.001

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0225999.t004>

Discussion

Immediate blood culture incubation significantly reduces the TTK and TTR. We found the TTK decreased by 18.9 h and the TTR decreased by 19.3 hours if the bottles were incubated directly at the ICU compared to a remote laboratory. These findings correspond with results published by Kerremans et al. [19]. Weinbren et al. reported a reduction in the time taken to detect most blood culture isolates to < 12 h by siting the incubator in the blood sciences laboratory and optimizing the pre-analytical and analytical phases of blood culture management [20]. In our study, the delay during the pre-analytic period, caused mainly by submission to the microbiological laboratory and limited opening hours, was associated with prolonged TTK and TTR.

The TTI and TTP we found in our study are within the range of previous studies [21–23]. Ronnberg et al. revealed a median TTI of 9 h in a mixed patient population compared to the 6.8 h we found [23]. Similarly, the increased TTI on weekends has been described before. Other studies found shorter transportation periods of 3 to 4 h; however, these did not report corresponding turnaround times [9–11]. Kerremans et al. reported a reduction of TTP defined as the time from collection to growth detection by 10 h if blood cultures were incubated immediately and continuously monitored [19]. Surprisingly, in our study, we found no time advantage for the TTP between the groups but a significantly increased TTP in the LAB group if TTI exceeds 8 hours. Though one should consider that TTP may be challenging to interpret, provides indirect information on the biomass and is associated with many other confounding factors (e.g. blood volume per bottle, conditions of cultures, transportation time, concomitant anti-infectives or sample type) [24,25]. Previous studies have demonstrated that a delay in loading the bottles into the incubator decreases the TTP, which was calculated by subtracting the time of receipt in the laboratory from the time required to detect a positive culture [26]. That may explain why we observed no effect on the TTP in the ICU group. However, because of the historical design of our study, we cannot exclude an analytical bias.

Current recommendations suggest blood culture incubation within 2 to 4 h [11,27]. Whereas only about one-third of all positive blood culture sets in the LAB group were incubated within 4 h, all sets in the ICU group were processed according to these recommendations within 1 h. In accordance with recently published data, we found an overall positivity rate of 18.6% [11,28]. Interestingly, there was a 6.5% higher positivity rate in the LAB group. One possible explanation is the higher proportion of shock patients in this group. Another explanation might be the higher proportion of multimicrobial blood cultures. Furthermore, this could be an effect confounded by our quality initiative, leading to an earlier admission of patients at risk for or at a previous stage of sepsis. We observed no difference in anti-infective treatment prior to sampling in blood culture sets with growth detection. We consider it unlikely that it is due to better bundle compliance because the latter was initiated two years before and monitored continuously by study nurses.

The TTK is the critical determinant of clinical relevance. It defines the interval until the clinician can react. Gehring et al. reported an increased rate of adequate antibiotic treatment from immediate communication in a prospective study on the effect of time-shifted telephone reporting of blood culture microscopy, despite some limits [29]. An isolated reduction in TTI or incubation time may not influence the treatment regime. A shorter TTK is a decisive clinical advantage of on-site culturing. The increased difference in TTK compared to TTI may partly be explained by the fact that the alarm of the incubator is immediately recognized by the ICU staff with on-site culturing, while additional information of the microbiologist to the clinician is required with external culturing. The relevance of this finding is emphasized by reports

suggesting that mortality in patients with septic shock increases every hour with delayed effective antibiotic treatment [12,30]. It needs to be considered that the initial empirical antibiotic therapy is ineffective in 20–30% of all patients [12,31].

Idelevich et al. found only 13% of laboratories in 25 European countries provide 24-h service to start immediate processing of blood culture bottles that have flagged positive [32]. Results of a recent qualitative survey demonstrate that the majority of LABs in France, Germany, Italy and the UK are closed overnight and only about 40% offer services on weekends except for the UK (where 62% opened during weekends) [16]. However, prolonged storage at room temperature of blood cultures may lead to falsified test results and deferred processing to a delay in adequate antimicrobial therapy for patients with bloodstream infections [33–35]. The study of Morton et al. demonstrates that blood culture yield is lower at the weekend caused by delays or errors in incubation and processing (so-called “weekend effect”) [36]. An Italian study found a lower probability of culture positivity for each hour of delayed incubation. Additionally, there is evidence that the positivity rate decreases if TTI exceeds 24 h [22,37]

Although we were not able to abandon the transport time completely, because the microbiology laboratory was not on site in our setting, there was a significant time-saving effect in TTR by blood culture incubation within 4 h. Immediate blood culture incubation and short transportation routes of positive cultures for microbiological analysis may have a significant effect on improving patients’ outcome. Additional studies are necessary to evaluate the clinical significance of shorter TTP and TTK. However, the conveyance of data seems to be more important than on-site incubation, as suggested by a wider variety of TTK than TTP. Results could also be transmitted electronically to the clinician.

An alternative to reduce re-evaluation times could be the implementation of an on-site blood culture incubation system or rather a round-a-clock service for immediate loading of the incubator with blood cultures. The advantage discussed becomes even more evident during the off-hours of the microbiological laboratory. However, installing an on-site blood culture incubation system operated by the medical staff of the ICU is linked to increased workload and the stringent necessity of profound knowledge. We found that all staff members involved accepted the additional workloads as soon as they were sufficiently trained to operate the system. The logistic effort of extensive training required seems to be reasonable considering the time-saving effect. Nevertheless, a blood culture incubation system available at a permanently open laboratory with continuous sample receipt, the direct transmission of the findings to the clinician by phone or alert system, and immediate further analyses remains the best solution which, in turn, entails the requirement of additional staff and subsequently increases costs. Rapid diagnostic technologies based on PCR followed by electrospray ionization mass spectrometry allow a culture-independent pathogen detection in bloodstream infections. Although the spectrum of detectable pathogens is currently limited, molecular tests are a valuable add-on to conventional blood culture. Several studies observed a higher diagnostic yield than cultures [38–41].

The present study has some limitations. Our results and conclusions may not be generalizable because of the retrospective, single-centre design. Our study results are probably not applicable to hospitals with microbiological laboratories that are staffed 24 h a day, but it is anything but the rule. Both groups have been sampled during different years. This represents a potential confounding variable we cannot control for. Furthermore, we cannot exclude an analytical bias concerning the processing in the laboratory.

In conclusion, our study demonstrates that on-site incubation of blood cultures significantly shortens the time to knowledge of positivity and time to result. These effects are even more pronounced outside the processing time of the microbiological laboratory. The results underline the importance of round-the-clock processing of blood cultures in patients with sepsis and septic shock and to communicate the results to the clinician immediately.

References

1. Weinstein MP, Reller LB, Murphy JR, Lichtenstein KA. The Clinical Significance of Positive Blood Cultures: A Comprehensive Analysis of 500 Episodes of Bacteremia and Fungemia in Adults. I. Laboratory and Epidemiologic Observations. *Rev Infect Dis.* 1983;5: 35–53. pmid:6828811
2. Schønheyder HC, Højbjerg T. The impact of the first notification of positive blood cultures on antibiotic therapy. A one-year survey. *APMIS.* 1995;103: 37–44. pmid:7695890
3. Bouza E, Sousa D, Muñoz P, Rodríguez-Créixems M, Fron C, Lechuz JG. Bloodstream infections: a trial of the impact of different methods of reporting positive blood culture results. *CLIN INFECT DIS.* 2004;39: 1161–1169. pmid:15486840
4. Bates DW, Cook EF, Goldman L, Lee TH. Predicting bacteremia in hospitalized patients. A prospectively validated model. *Ann Intern Med.* 1990;113: 495–500. pmid:2393205
5. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, Hwang T, Davis CS, Wenzel RP. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). A prospective study. *JAMA.* 1995;273: 117–123. pmid:7799491
6. Bates DW, Sands K, Miller E, Lancken PN, Hibberd PL, Graman PS, et al. Predicting bacteremia in patients with sepsis syndrome. Academic Medical Center Consortium Sepsis Project Working Group. *J Infect Dis.* 1997;176: 1538–1551. pmid:9395366
7. Roth A, Wiklund AE, Pålsson AS, Melander EZ, Wullt M, Cronqvist J, et al. Reducing blood culture contamination by a simple informational intervention. *Journal of Clinical Microbiology.* American Society for Microbiology; 2010;48: 4552–4558. pmid:20881178
8. SepNet Critical Care Trials Group. Incidence of severe sepsis and septic shock in German intensive care units: the prospective, multicentre INSEP study. *Intensive Care Med.* 2016;42: 1980–1989. pmid:27686355
9. Mancini N, Carletti S, Ghidoli N, Cichero P, Burioni R, Clementi M. The era of molecular and other non-culture-based methods in diagnosis of sepsis. *Clin Microbiol Rev.* 2010;23: 235–251. pmid:20065332
10. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Critical Care Medicine.* 2017. pp. 486–552. pmid:28098591
11. Venturelli C, Righi E, Borsari L, Aggazzotti G, Busani S, Mussini C, et al. Impact of Pre-Analytical Time on the Recovery of Pathogens from Blood Cultures: Results from a Large Retrospective Survey. *Calderaro A, editor. PLoS ONE.* 2017;12: e0169466–11. pmid:28046040

12. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Critical Care Medicine*. 2006;34: 1589–1596. pmid:16625125
13. Whiles BB, Deis AS, Simpson SQ. Increased Time to Initial Antimicrobial Administration Is Associated With Progression to Septic Shock in Severe Sepsis Patients. *Critical Care Medicine*. 2017;45: 623. pmid:28169944
14. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Trikha G, Rand KH, Ramphal R. Time to positivity of blood cultures supports antibiotic de-escalation at 48 hours. *Ann Pharmacother*. 2014;48: 33–40. pmid:24259644
15. Garnacho-Montero J, Gutiérrez-Pizarra A, Escoreca-Ortega A, Corcia-Palomo Y, Fernández-Delgado E, Herrera-Melero I, et al. De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med*. 2014;40: 32–40. pmid:24026297
16. Schmitz RPH, Keller PM, Baier M, Hagel S, Pletz MW, Brunkhorst FM. Quality of blood culture testing—a survey in intensive care units and microbiological laboratories across four European countries. *Crit Care*. 2013;17: R248. pmid:24144084
17. Scheer CS, Fuchs C, Kuhn S-O, Vollmer M, Rehberg S, Friesecke S, et al. Quality Improvement Initiative for Severe Sepsis and Septic Shock Reduces 90-Day Mortality: A 7.5-Year Observational Study. *Critical Care Medicine*. 2017;45: 241–252. pmid:27661863
18. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. 1992. pp. 1644–1655.
19. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Immediate incubation of blood cultures outside routine laboratory hours of operation accelerates antibiotic switching. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009;47: 3520–3523. pmid:19710262
20. Weinbren MJ, Collins M, Heathcote R, Umar M, Nisar M, Ainger C, et al. Optimization of the blood culture pathway: a template for improved sepsis management and diagnostic antimicrobial stewardship. *J Hosp Infect*. 2018;98: 232–235. pmid:29309813
21. Kerremans JJ, van der Bij AK, Goessens W, Verbrugh HA, Vos MC. Needle-to-incubator transport time: logistic factors influencing transport time for blood culture specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 2009;47: 819–822. pmid:19129412
22. Saito T, Iinuma Y, Takakura S, Nagao M, Matsushima A, Shirano M, et al. Delayed insertion of blood culture bottles into automated continuously monitoring blood culture systems increases the time from blood sample collection to the detection of microorganisms in bacteremic patients. *J Infect Chemother*. 2009;15: 49–53. pmid:19280302
23. Rönnerberg C, Mildh M, Ullberg M, Özenci V. Transport time for blood culture bottles: underlying factors and its consequences. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2013;76: 286–290. pmid:23680239

24. Dreyer AW. Blood Culture Systems: From Patient to Result. Sepsis—An Ongoing and Significant Challenge. IntechOpen; 2012.
25. Lamy B. Reprint of: Blood culture time-to-positivity: making use of the hidden information. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25: 399–402. pmid:30898587
26. Janapatla RP, Yan J-J, Chien M-L, Chen H-M, Wu H-M, Wu J-J. Effect of Overnight Storage of Blood Culture Bottles on Bacterial Detection Time in the BACTEC 9240 Blood Culture System. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. 2010;43: 126–132.
27. Microbiology HIASF, Washington, DC, 1992. Interpretation of aerobic bacterial growth on primary culture media, *Clinical microbiology procedures handbook*, vol. 1 p. 1.61–1.67.
28. Scheer CS, Fuchs C, Gründling M, Vollmer M, Bast J, Bohnert JA, et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clinical Microbiology and Infection*. 2019;25: 326–331. pmid:29879482
29. Gehring T, Kim H, Hoerauf A, Buechler C. A prospective study on the effect of time-shifted telephone reporting of blood culture microscopy. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019;38: 973–975. pmid:30911927
30. Pruinelli L, Westra BL, Yadav P, Hoff A, Steinbach M, Kumar V, et al. Delay Within the 3-Hour Surviving Sepsis Campaign Guideline on Mortality for Patients With Severe Sepsis and Septic Shock. *Critical Care Medicine*. 2018;46: 500–505. pmid:29298189
31. Towns ML, Jarvis WR, Hsueh P-R. Guidelines on blood cultures. *J Microbiol Immunol Infect*. 2010;43: 347–349. pmid:20688297
32. Idelevich EA, Seifert H, Sundqvist M, Scudeller L, Amit S, Balode A, et al. Microbiological diagnostics of bloodstream infections in Europe-an ESGBIES survey. *Clin Microbiol Infect*. 2019;25: 1399–1407. pmid:30980927
33. Schwetz I, Hinrichs G, Reisinger EC, Krejs GJ, Olschewski H, Krause R. Delayed processing of blood samples influences time to positivity of blood cultures and results of Gram stain-acridine orange leukocyte Cytospin test. *Journal of Clinical Microbiology*. 2007;45: 2691–2694. pmid:17537945
34. Meda M, Clayton J, Varghese R, Rangaiah J, Grundy C, Dashti F, et al. What are the critical steps in processing blood cultures? A prospective audit evaluating current practice of reporting blood cultures in a centralised laboratory serving secondary care hospitals. *J Clin Pathol*. 2017;70: 361–366. pmid:27864449
35. Sikkens JJ, Möhlmann MC, Peerbooms PG, Lettinga KD, Peters EJG, Kramer MHH, et al. The impact of laboratory closing times on delay of adequate therapy in blood stream infections. *Neth J Med*. 2018;76: 351–357. pmid:30362944
36. Morton B, Nagaraja S, Collins A, Pennington SH, Blakey JD. A Retrospective Evaluation of Critical Care Blood Culture Yield—Do Support Services Contribute to the “Weekend Effect?” Lazzeri C, editor. *PLoS ONE*. 2015;10: e0141361–10. pmid:26492559

37. Akan OA, Yildiz E. Comparison of the effect of delayed entry into 2 different blood culture systems (BACTEC 9240 and BacT/ALERT 3D) on culture positivity. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 2006;54: 193–196. pmid:16427242
38. Lehmann LE, Alvarez J, Hunfeld K-P, Goglio A, Kost GJ, Louie RF, et al. Potential clinical utility of polymerase chain reaction in microbiological testing for sepsis. *Critical Care Medicine*. 2009;37: 3085–3090. pmid:19633541
39. Bloos F, Sachse S, Kortgen A, Pletz MW, Lehmann M, Straube E, et al. Evaluation of a polymerase chain reaction assay for pathogen detection in septic patients under routine condition: an observational study. Salluh JIF, editor. *PLoS ONE*. 2012;7: e46003. pmid:23029360
40. Bacconi A, Richmond GS, Baroldi MA, Laffler TG, Blyn LB, Carolan HE, et al. Improved Sensitivity for Molecular Detection of Bacterial and Candida Infections in Blood. Gilligan PH, editor. *Journal of Clinical Microbiology*. 2014;52: 3164–3174. pmid:24951806
41. Vincent J-L, Brealey D, Libert N, Abidi NE, O'Dwyer M, Zacharowski K, et al. Rapid Diagnosis of Infection in the Critically Ill, a Multicenter Study of Molecular Detection in Bloodstream Infections, Pneumonia, and Sterile Site Infections*. *Critical Care Medicine*. 2015;43: 2283–2291. pmid:26327198

10 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Doktor Matthias Gründling für die Vergabe des interessanten Themas, die motivierende und vor allem geduldige Betreuung der Arbeiten, die Förderung meines wissenschaftlichen Interesses und die Eingliederung in das Team des Sepsisdialogs, wodurch die gemeinschaftliche Publikation unserer Ergebnisse erst möglich wurde.

Insbesondere möchte ich mich auch bei Frau Manuela Gerber bedanken, die immer ein offenes Ohr hat und deren Unterstützung besonders wertvoll war. Auch Herrn Doktor Scheer gilt großer Dank für seine unterstützende Wirkung insbesondere in den ersten Jahren des Projekts. Frau Doktor Balau gebührt Dank für die vielen gemeinsamen Stunden in der Mikrobiologie und ihr Vermögen mir dieses spannende Feld näherzubringen. Ohne die gemeinsame Arbeit und vereinigten Fähigkeiten der Koautoren der Publikationen wie Doktor Kuhn und seine vielen Arbeitsstunden, Herrn Doktor Fuchs und seine kritischen Hinterfragungen, Herrn Doktor Vollmer und sein mathematisches Talent, dem außerplanmäßigen Professor Rehberg und seiner Erfahrung sowie Herrn Professor Hahnenkamp und Herrn Doktor Bohnert und deren Unterstützung, hätten wir diese beeindruckenden Daten nie in diesem Maße analysieren und interpretieren können. Natürlich gilt mein Dank dem gesamten Team des Sepsisdialog für die vielen spannenden Vorschläge, interessanten Einwände und weiterführenden Diskussionen.

Des Weiteren bedanke ich mich bei meinem Partner und zukünftigem Ehemann Clemens für seine Geduld während des Studiums und der Fertigstellung dieser Arbeit, seine ansteckende Neugier und sein Interesse, sowie seinem Verständnis und seiner Toleranz gegenüber meinem Arbeitsalltag.

Der größte Dank gilt meiner Familie, vor allem meinen Eltern, die mich mehr als alles andere geprägt haben, die mir Demut, Toleranz und Dankbarkeit nahegebracht haben, deren Vorbild mich inspiriert und ohne deren Unterstützung und Rückhalt ich nie zu der Person geworden wäre, die ich heute bin.